

547, 681

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日:

2004年9月30日(30.09.2004)

PCT

(10) 国际公布号:

WO 2004/083863 A1

(51) 国际分类号<sup>7</sup>: G01N 33/543, C12Q 1/68

(21) 国际申请号: PCT/CN2004/000169

(22) 国际申请日: 2004年3月4日(04.03.2004)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

03117397.7	2003年3月4日(04.03.2003)	CN
03135251.0	2003年6月19日(19.06.2003)	CN
03135958.2	2003年9月30日(30.09.2003)	CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 成都夸常医学工业有限公司(CHENGDU KUACHANG MEDICAL INDUSTRIAL LIMITED) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高朋大道5号博士创业园, Sichuan 610041 (CN)。成都夸常科技有限公司(CHENGDU KUACHANG SCIENCE & TECHNOLOGY CO., LTD) [CN/CN]; 中国四川省成都市桐梓林中路1号, Sichuan 610041 (CN)。

(72) 发明人:及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 邹方霖(ZOU, Fanglin) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区玉林南路64号1幢4单元12号, Sichuan 610000 (CN)。陈春生(CHEN, Chunsheng) [CN/CN]; 中国四川省成都市龙舟路63号13幢2单元4号, Sichuan 610000 (CN)。陈宁(CHEN, Ning) [CN/CN]; 中国四川省攀枝花市东区瓜子坪四村42号附32号, Sichuan 610000 (CN)。王建霞(WANG, Jianxia) [CN/CN]; 中国四川省眉山市纱帽行南段6号3幢2单元2号, Sichuan 610000 (CN)。

(74) 代理人: 永新专利商标代理有限公司北京办事处(NTD PATENT & TRADEMARK AGENCY LTD., BEIJING OFFICE); 中国北京市金融大街27号投资广场A座10层, Beijing 100032 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:

- 包括国际检索报告。
- 在修改权利要求的期限届满之前进行, 在收到该修改后将重新公布。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: AN INTEGRATING ANALYSIS CHIP WITH MINIMIZED REACTORS AND ITS APPLICATION  
(54) 发明名称: 反应器高度最小化的高集成度分析芯片及其应用

(57) Abstract: The present invention relates to a microarray chip for analysis, especially a microarray chip with multiple reactors. The invention also relates to components of the microarray chip, especially the structures of the reactor minimized wondrously, comprising insulating structures, fluidic elements and reactor cells. Further, the invention relates to a protecting system of the reactors according to the microarray chip of the invention. The present invention also involves a marker system of the chip. Furthermore the invention involves the application of the microarray chip according to the invention and a relative detection equipment.

(57) 摘要

本发明涉及微阵列分析芯片、特别是多反应器微阵列芯片。本发明还涉及本发明的微阵列芯片的组成, 特别是高度最小化的反应器结构, 包括隔离结构、流路结构、及反应室结构。本发明还涉及本发明的微阵列芯片的反应器的保护系统。本发明还涉及芯片标记系统。本发明还涉及本发明芯片的应用及相关检测装置。

## 反应器高度最小化的高集成度分析芯片及其应用

### 技术领域

本发明涉及分析芯片、特别是多反应器芯片。更具体而言，本发明涉及反应器高度最小化的高集成度分析芯片及其应用。

### 背景技术

分析芯片、简称芯片，有着广泛的应用范围，包括基因表达检测、基因筛选、药物筛选、疾病诊断治疗、环境监测和治理、司法鉴定等领域。

芯片的核心是其上的反应器，而有标记物的芯片还包括其标记系统。芯片反应器中最重要的三部分分别为探针阵列、片基和反应器结构。探针阵列通常是用多肽、核酸等分析中所用探针经点样、喷印等方式固定在片基表面形成的。片基主要是玻璃、金属、塑料等材料及其衍生物制作的矩形、圆形或其它形状的含有活性衍生基团的平面载体，其中玻璃及其衍生物（例如胺基玻片、醛基玻片、环氧基玻片和聚氨基酸包被玻片等），是目前使用的主要片基。反应器结构包括反应器隔离结构、反应器流路结构、反应器分离结构、反应器反应室结构，等等。

芯片得以快速发展，与其高集成度有很大关系。高集成度包括下述四个方面的内容：装置微型化、高密度探针阵列、高密度反应器和多功能集成。在高集成度芯片开发上现已在三个方向取得重大进展：一是探针分布的高密度化（例如高密度探针芯片），二是装置的多功能化（例如芯片上实验室），三是装置微型化。然而，随着实际应用的发展，芯片的发展面临新的问题。例如，多肽芯片中往往不需要固定很多种类的探针，那么高密度化的意义何在呢？又例如，大规模诊断筛查需要低成本的检测装置，那么怎样实现低成本的多功能化呢？本发明的发明人认为：低成本、高集成度的芯片，仍是芯片开发的一个重要方面。

芯片的现状如下：

#### 一、芯片与反应器隔离结构

最先发展起来、目前仍广泛使用的芯片是无隔离结构芯片，即单反应器开放式非流动芯片，例如以显微镜载玻片为基础、经活化和点样制成、无其它新增结构的单反应器芯片。其优点是结构简单、点样和扫描操作均简便易

行、部分操作还可在外力推动下的介质流动状态下进行（例如喷液清洗），缺点是只固定一个探针阵列。在检测样品中目标物种类不多，例如小于 100 种，从而每个反应器中固定的探针种类不多的情况下，通常决定芯片成本的正是反应器片基探针区与反应器平均片基面积之比。因而，为降低成本必须开发高密度反应器芯片。而高密度反应器芯片开发要解决的主要问题之一是选择适当的反应器隔离结构。此外，为了减小样品加入量也需要对液相介质的流动进行限制。再就是，由于广泛地使用光学扫描装置，反应器隔离结构的厚度受到一定限制，趋于零的隔离结构高度是降低对扫描装置技术要求的一个重要途径。另外，高度最小化的隔离结构也有利于洗涤。

为了提高效益，生产商和研究人员对无隔离结构芯片进行了很多改进，从而开发出一些有隔离结构芯片。有隔离结构芯片可以分为不可拆卸的和可拆卸的两类。目前市场上有一种隔离结构不可拆卸的芯片，是一种多开放式非流动反应器芯片，其基本结构为：在一块尺寸为 25 mm×75 mm 或 26 mm×75 mm（宽×高）的标准基片上，以疏水材料（表面接触角在 50 度到 75 度之间，例如聚脂或 PVC）形成高度大于 0.5 mm、宽度大于 1 mm 的凸体，从而可以在基片上形成几到几十个圆形或方型的开放式反应器。此一芯片的隔离结构仍是以高度差作为控制液相介质流动。在此类芯片中，开放式反应器隔离区如太低会出现相邻反应器之间的交叉污染，如其太高则对芯片扫描仪的技术要求提高。此外，目前也有一种隔离结构可拆卸的基于酶标板结构的芯片。但主要的缺点是操作复杂，或其反应器之间的隔离结构仍不能实现厚度最小化。

尽管目前有非常多的隔离结构方案（如第 02145102.8 和 99114512.7 号中国专利申请），易制作、低成本、高度最小化的隔离结构仍是芯片开发的热门课题之一。

## 二、芯片与反应器流路结构和反应器分离结构

目前，最广泛研究的反应器流路结构和反应器分离结构为微流路，或微通道。微通道尺寸通常为：宽度小于 0.10 mm，深度小于 0.025 mm。因而现有微流路实际上是一种凹流路。含有微流路的芯片被称作微流路芯片，即以微流路为网络连接微泵、微阀、微储液器、微电极、微检测元件等集采样、前处理、液体输送等分析功能集成于一体的微全分析系统。微通道芯片的一

个例子是 Caliper Technologies Inc. 公司 ([www.caliper.com](http://www.caliper.com)) 的检测用芯片。微通道芯片的优点是灵敏度高、速度快。其缺点是：1) 生产过程中需先刻蚀出微通道，点上探针，然后再进行微通道密封制作，其构造复杂，工业化生产难度非常大；2) 检测时液体流速需用专门精密设备控制，例如电渗透装置，等；3) 反应完成后，由于固定的探针分子在其内表面，对于某些检测例如荧光标记物检测，不能直接使用普通芯片扫描仪读取结果。尽管目前有非常多的微流路方案（如第 98805243.1、98813487.X 和 98813488.8 中国专利申请；第 878437、801390 和 090840 号美国专利），易制作、低成本的流路结构仍是芯片开发的热门课题之一。

### 三、芯片与反应器反应室结构

反应室包括开放的反应池和封闭的反应腔室。反应腔室芯片即封闭式芯片，即使其部分隔离结构为开放式隔离结构。封闭式芯片包括流动式和非流动式芯片。一种封闭式非流动芯片在反应时对反应器进行封闭，在加液和洗涤时揭开封闭层操作（参考 CN 1335501A）。封闭式微阵列流动芯片则可见中国专利 ZL 022229310。不可逆封闭式微阵列流动芯片可见 CN 2559986Y，可逆封闭式微阵列流动芯片可见中国专利 ZL 022229310，等等。这些芯片的反应腔室均只在一个面上固定配基，这在对灵敏度要求特别高时难以满足要求。特别是，现有的封闭式腔室流动芯片，在设计时考虑的因素为配基一目标物反应动力学条件和信号观测条件。液相介质在反应器中、尤其是在反应器的反应腔室中的移动，是通过机械输运、液相介质自重、进液结构或/和出液结构的亲水性之一种或一种以上的组合来实现的。对于反应腔室而言，这些都是外源性的液体传输动力。当然，反应腔室的顶面、底面和壁往往具有亲水性，然而单靠其亲水性这种内源性的液体传输动力是弱的。结果是，目前的封闭式微阵列芯片，在检测操作、特别是含有转换介质的操作中，在其反应器中反应腔室中液相介质的分布有时是不充分的，例如有气体存在阻碍液相介质的分布，从而影响检测结果。目前有一种毛细管芯片，其反应腔室为在毛细管通道的一段壁上或一段插入毛细管中的玻纤结构上固定配基形成的（CN 2483395A）。但是，由于毛细管内壁或可进入毛细管的玻纤结构都很小，不适于制作阵列芯片。此外，上述反应腔室结构在使用某些信号读取装置（例如共聚焦光扫描仪）时，不能在腔室上顶元件存在的条件下

直接读取信号。

#### 四、芯片与标记系统

目前的芯片，一种是将标记物预置于反应器中，例如中国专利《一种低密度生物芯片及其制作方法》（专利申请号 00129440.7），在检测操作时标记物均是瞬时释放的；另一种是将标记物溶液加入样品或加入探针—目标物反应完成后的反应器中。后一标记系统虽有较高的灵敏度，但操作步骤较复杂。前一标记系统虽操作步骤简化，但由于虎克现象（HOOK effect）等原因大大降低了检测灵敏度。利用这种标记系统进行芯片分析，为避免虎克现象，其标记物均是在需要时以溶液状态完全由机械系统作用而进入反应位置的。例如，利用目前具有外置标记系统的平面芯片和内置标记系统的通道式芯片进行芯片分析，需要专门的加入标记物溶液的步骤和相应机械系统。换言之，目前的芯片分析，其中的标记步骤必须机械系统专门输运标记物，这就往往需要专门的标记物贮存器、标记物输运管道及输运物转换器及转换程序，从而使检测装置的复杂程度居高不下。此外，由于每个芯片检测所需标记物量很少，这两种标记系统中标记物的贮存及配制条件亦较麻烦。目前的微通道芯片，虽具有内置标记系统，其标记物在检测操作时也是瞬时释放的，其需要专门的加入标记物溶液的步骤和相应机械系统。

#### 五、反应器保护系统

随着高密度反应器芯片的引入，其应用中一个重要的、但往往被人们忽略的问题是：如果一次实验仅使用  $m$  个反应器，而芯片上有  $n$  个反应器（ $n > m$ ），怎样保护另外  $n - m$  个反应器供以后的实验使用。这个问题的解决是实现低成本的高密度反应器芯片的必要条件。对于单反应器芯片，目前的反应器保护系统是整个芯片的保护系统，通常是含有芯片架（格）的塑料盒子。非常奇怪的是，对于多反应器芯片，目前尚无置于反应器芯片上的专用保护结构，仍使用上述单反应器芯片的保护系统。

因而，以目前的反应器隔离结构、反应器流路结构、反应器分离结构、反应器反应腔室结构、标记系统、反应器保护系统组成的芯片，便有与其不足之处相应的尚待改进之处。

## 发明内容

本发明的目的在于提供制作简便、成本较低、灵敏度高、样品耗量小、检测操作步骤少、反应介质分布均匀的高集成度分析芯片以及相关装置。

我们在研制输血检测芯片、肿瘤标记物检测芯片和肝炎检测芯片的过程中，为了让研制的芯片除了有更好的质量，而且在价格上也要比目前通用的Elisa试剂盒更具有竞争力，于是深深地感觉到提高此类芯片中的成本控制因素之一的基片的使用效率、或者说提高芯片的集成度是解决问题的关键之一。此外，亦发现为了通过降低检测时对扫描仪的技术要求来降低对扫描仪的投资、及减少操作步骤、方便洗涤，减小反应器结构高度是很重要的。因此，把“反应器结构高度最小化和集成度最大化”作为一个重要的研究课题，形成了本发明。

本发明的目的是通过如下方式实现的：

一种分析芯片，其含一个或一个以上的多个高度最小化的反应器，所述反应器至少包括一个或多个毛细宽带反应腔室(1)、高度最小化的反应器结构(2)、及任选的标记系统凸体(3)，所述反应器结构至少包括开放式隔离结构(4)、及任选的凸流路、及任选的反应器保护结构，而且：

(a) 所述毛细宽带反应腔室包括：分别由顶面元件和底面元件提供的宽度大于  $600\mu\text{m}$  的顶面(5)和底面(6)、固定在所述顶面或/和底面上的片基探针区(7)内的探针、所述顶面和底面之间高度  $1-1000\mu\text{m}$ 、优选  $1-500\mu\text{m}$  的封闭式隔离结构(8)及进液口(9)和出液口(10)，且所述顶面和底面的尺寸、间距和材质的选择使得反应介质可以在所述腔室中形成毛细现象；

(b) 所述凸流路包括高度大于  $0.05-1000\mu\text{m}$ 、优选  $0.05-500\mu\text{m}$ ，宽度  $50-4000\mu\text{m}$  的高亲水凸体；

(c) 所述开放式隔离结构包括宽度为  $0.5-10\text{mm}$  的片基空白区，或/和高度小于  $1000\mu\text{m}$ 、优选小于  $500\mu\text{m}$  的疏水凸体或/和高疏水凸体或/和吸水凸体；

(d) 所述标记系统凸体为不掩蔽所述探针的含标记物的凸体；

(e) 所述保护结构包括其底面与所述片基探针区所在平面间距小于  $1000\mu\text{m}$ 、优选小于  $500\mu\text{m}$  的保护元件，所述保护元件在不欲加入样品时封闭至少部分反应器结构，而在欲加入样品时其被全部或部分不可逆地去

除;

其中所述片基探针区和片基空白区在同一片基同一平面上且吸水率小于 0.1 g/g、表面静态水接触角为 40—80 度, 所述高疏水凸体、疏水凸体、高亲水凸体、吸水凸体分别为至少部分表面分别含高疏水材料、疏水材料、高亲水材料、吸水材料的凸体, 所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大 40 度以上, 所述疏水材料的表面静态水接触角为 55—80 度, 所述高亲水材料的表面静态水接触角小于 40 度, 所述吸水材料的吸水率大于 0.1 g/g。

本发明的毛细宽带反应腔室与目前的封闭式流动芯片的反应腔室的不同之处至少在于: 前者要求进行其顶面或/和底面的尺寸、间距和材料性质的选择以使反应介质可以在所述腔室中形成毛细现象, 而后者不要求有此选择因而必需引入其它介质分散机制、例如腔室中加膜等。

本发明的毛细宽带反应腔室与目前的微通道芯片的微通道反应腔室的不同之处至少在于: 前者具有宽的片基探针面 ( $> 500 \mu\text{m}$ ) 以固定较大的探针阵列而后者则无宽的片基探针面 ( $> 500 \mu\text{m}$ ), 以及前者可用较大流量的毛细现象直接进行介质分布、而后者只有极小流量的毛细现象故使用时需外加能量进行介质分布。

本发明的毛细宽带反应腔室与毛细管芯片的不同之处至少在于: 前者由两个面及两面之间的结构形成的一个毛细结构可固定较大的探针阵列, 而后者则不能。

本发明的毛细宽带反应腔室的顶面和底部可以是矩形、圆形等各种几何形状。所述顶面或/和底面的材料、特别是所述片基探针区的材料可以是选自以下之一或任意两种或两种以上的组合: 玻璃、硅和硅化合物、金属氧化物、金属和聚合物材料及它们各自的衍生物等。其中的探针阵列, 也可以有矩阵式、虚线式、实线式等各种有序分布。实际上, 根据芯片不同的使用, 可以有也应当有配基有序分布方式的不同选择。所述探针可以是选自以下组中的一种或两种及两种以上任意组合的物质: 抗原、抗体、配体、配体指数增强系统进化技术 (SELEX) 筛选的适配分子、多肽和单链或多链 DNA、核苷酸、聚核苷酸、糖、共酶、辅因子、抗生素、类固醇、病毒、细胞。

本发明的凸流路特别区别于现有芯片中的微流路, 后者需要加工沟、槽或封顶是一种凹流路, 其加工复杂、成本昂贵。

本发明的标记系统凸体可以有不同的几何形态,例如点、线、带、球体、等等。

在根据本发明的芯片中,所述毛细宽带反应腔室的优选方案为:所述封闭式隔离结构的高度 $1-300\mu\text{m}$ 、更优选为 $30-100\mu\text{m}$ ,所述顶面和底面的宽度 $1000-15000\mu\text{m}$ 、长度大于 $1000\mu\text{m}$ 。所述毛细宽带反应腔室的所述进液口和出液口的宽度与所述底面和顶面的宽度相等或不相等,它们的高度与所述底面和顶面间的间距相等或不相等。我们发现,在利用毛细现象直接进行介质分布的情况下,保持一定的腔室高度(例如 $30\mu\text{m}$ )是必要的。此外,我们还发现,即使利用机械外力分布反应介质,保持一定的腔室高度也是有利于避免气泡等分布不均现象。

在根据本发明的芯片中,所述毛细宽带反应腔室的优选方案为:所述顶面和底面的宽度 $1500-15000\text{mm}$ 、更优选为 $2500-15000\text{mm}$ 。

在根据本发明的芯片中,所述毛细宽带反应腔室的所述封闭式隔离结构包括下述一种或多种可逆或不可逆密封结构:热密封结构,化学密封结构,可逆或不可逆粘胶层,高疏水层,和包括高分子材料弹性涂层、片、带的机械密封件。所述封闭主要指顶面元件和底面元件之间除进液口和出液口以外的边界的封闭。包括粘合或/和热融合或/和HF或硅酸钠低温键合的方式形成的封闭主要是不可逆封闭。胶粘方式形成的封闭可是不可逆封闭也可是可逆封闭。高疏水隔水密封和机械密封方式形成的封闭主要是可逆封闭。不可逆封闭在需要时可通过机械作用开放顶面或底面形成开放式腔室。所述机械密封件均有一定弹性,例如其邵尔硬度 $20-100$ 度、等等,其可由橡胶(例如天然橡胶及其衍生物;合成橡胶、如丁腈胶、丁基胶、氟橡胶、硅橡胶、氟硅橡胶等)及各种有机聚合物(如有机硅聚合物、含氟聚合物、聚碳酸酯、塑料等)制成。

在根据本发明的芯片中,所述毛细宽带反应腔室的所述底面或/和顶面处的底面元件或/和顶面元件厚度小于 $1\text{mm}$ 、优选小于 $0.2\text{mm}$ ,且检测光线透过率大于 $90\%$ 。本发明中,此一透明元件的例子为高 $0.15\text{mm}$ 的盖玻片或活化盖玻片。因而,本发明的芯片可直接由信号检测仪器检出反应结果,所述信号检测仪器包括共聚焦激光扫描仪和激光扫描仪。在实施例,当顶面元件盖玻片足够薄时(例如 $\leq 0.15\text{mm}$ ),本发明的芯片可直接用于扫描仪扫描而不需作拆卸处理,有无盖玻片所得到的结果并无明显不同。



在根据本发明的芯片中,在所述毛细宽带反应腔室的底面和顶面中仅一个面固定有配基,且固定配基的面具有亲水性质而不固定配基的面具有疏水性质。其所述底面的材质为玻璃,而所述顶面其材质为亲水或疏水塑料。

在根据本发明的芯片中,所述毛细宽带反应腔室的所述片基探针区中有一个区域固定有一种或多种配基,而另有一个区域固定有一种或多种与所述配基相应的配体。所述配基和配体包括抗原和抗体。例如与所述抗原相应的抗体、抗抗体等。本发明的芯片提供了一种新的、高灵敏度的、可同时检测抗原及其相应抗体的工具。

在根据本发明的芯片中,所述凸流路为高亲水涂层。需要时该凸流路的隔离结构为高度小于  $1000\mu\text{m}$ 、优选小于  $500\mu\text{m}$  的疏水凸体或/和高疏水凸体。

在根据本发明的芯片中,所述凸流路中还可固定有分离介质,所述分离介质包括电泳介质或层析介质。

在根据本发明的芯片中,所述高疏水凸体、疏水凸体、高亲水凸体、吸水凸体分别由液态材料固化在所述芯片表面而形成、或/和由固态材料固定在所述芯片表面而形成,其中所述液态材料包括分别含有所述高疏水材料、疏水材料、高亲水材料、吸水材料的溶液、涂料、凝胶、乳液,所述固态材料包括分别含有所述高疏水材料、疏水材料、高亲水材料、吸水材料的片、膜、板、带、粉。用液态材料固化法制备所述凸体的例子为: A、提供能够结合到基片上的所述液态材料; B、将其涂覆在基片上指定的位置; C、干燥或/和加固化剂固化涂覆物质以形成固态覆涂层;其中的固化反应,包括氧化聚合型(例如含干性油改性的漆等)、溶剂挥发型(例如常温干燥固化的清漆等)、固化剂固化型、加温固化型、生物酶催化型(例如大漆等)、等等。用固态材料固定法制备所述凸体的例子为: A、提供能够结合到基片上的已成型的固态物质; B、将所述固体物质以胶粘或/和热贴合方法结合在基片上指定位置。

在根据本发明的芯片中,所述高疏水凸体的高度优选为  $0.1-100\mu\text{m}$ 。实际上,在实施例,当其高度为  $20-50\mu\text{m}$  时,也可达到令人满意的效果。

在我们的研究中,我们发现高疏水性可以作为芯片的一种反应器隔离机制,有效地把水溶液限制在高疏水材料包围的亲水基片表面。表1列出了一些高疏水材料涂层的隔离效果。

表 1 一些高疏水材料涂层的隔离效果

高疏水涂层	静态水接触角	涂层宽度	涂层厚度	亲水基片表面积	加水量	90 度垂流
有机硅涂料	95 度	1mm	30—40 $\mu$ m	16mm <sup>2</sup>	20 $\mu$ l	—
纳米纺织物	155 度	1mm	400 $\mu$ m	16mm <sup>2</sup>	30 $\mu$ l	—
纳米氧化硅 CDJ7	160 度	1mm	20—30 $\mu$ m	16mm <sup>2</sup>	30 $\mu$ l	—
黑漆 (创可喷)	85 度	1mm	< 5 $\mu$ m	16mm <sup>2</sup>	15 $\mu$ l	—
无涂层基片	45 度	—	—	16mm <sup>2</sup>	10 $\mu$ l	+

表中 90 度垂流是指将芯片相对水平面旋转 90 度, 观察水往下垂流, 有流动为阳性反应 (+), 无流动为阴性反应 (—)。

在根据本发明的芯片中, 所述高疏水材料的表面静态水接触角优选比所述片基探针区的表面静态水接触角大 70 度以上、更优选大 90 度以上、特别优选大 110 度以上。

在根据本发明的芯片中, 所述高疏水材料包括高疏水有机材料或/和高疏水纳米材料。所述高疏水材料包括下述一种或多种材料: 高疏水有机硅材料及其衍生物、高疏水氟树脂及其衍生物、高疏水聚合物和含高疏水纳米微粒的涂料或/和固态材料。所述的有机硅材料是以硅氧烷键为基础的有机硅聚合物、共聚物或其高疏水衍生物。所述的氟树脂包括: 氟树脂低聚体、聚四氟乙烯 (PTFE)、共聚氟树脂 (PFEP)、聚三氟氯乙烯、聚偏氟乙烯。所述的高疏水聚合物包括高疏水聚丙烯、聚丙烯酸酯及其衍生物。所述高疏水纳米微粒的涂料或/和固态材料中, 所述纳米微粒包括直径为 1 nm—100 nm 的下列一种或一种以上的纳米微粒: 金、钒、铅、银、铁及其氧化物粉体, 氧化硅、氧化钛、氧化铝粉体、及它们的衍生物。

在根据本发明的芯片中, 所述疏水凸体包括疏水涂层, 该疏水涂层包括反应器的有色标记线、条。

在根据本发明的芯片中, 所述高亲水材料的表面静态水接触角优选小于 30 度。所述高亲水材料包括高亲水纳米材料 (例如高亲水纳米材料) 和高亲水高分子材料 (例如高亲水聚丙烯酸涂料)。

在根据本发明的芯片中, 所述吸水材料包括天然吸水材料、亲水无机化合物的固相多孔物质及合成高分子吸水材料。所述吸水材料包括下述一种或

多种材料：含毛细管结构纸制品、棉制品、海绵及其改性物，钙盐，纤维素系吸水材料、淀粉系吸水材料、合成树脂系及其接枝、嵌段、共聚产生的化合物吸水材料。

在根据本发明的芯片中，所述标记系统凸体的优选方案为控制缓释标记系统凸体，且其中所包括的标记物的半释期大于 10 秒、优选大于 30 秒。控制缓释标记系统的一个例子为程序式释放体系，其中标记物释放的速率、滞后时间主要由体系自身材料及结构来决定。所述标记系统凸体中的所述标记物，其标记方法包括化学发光标记，激发发光标记，非选择性光反射标记及选择性光反射标记。标记物含有标记物质及配基，其中：所述标记物质包括酶、荧光染料、化学发光催化剂、有色金属或有色金属盐、染料和颜料、等等，所述配基包括抗原、抗体、生物素、药物配基、多肽、DNA、RNA 及其片断、等等。在本发明中，“标记物半释期”是在标记反应条件下标记物从控制缓释标记系统向反应器中释放 50% 所需的时间。显然，本发明的标记系统为控制缓释标记系统。控制缓释标记系统凸体可以有不同的技术方案，例如：内含液态或固态标记物的控制缓释剂球体或其它立体、含有标记物和控制缓释剂的点或线等。在此情况下，所述标记系统凸体的高度小于  $1000\ \mu\text{m}$ ，且固定在反应器中探针阵列周围、或固定在探针阵列内形成探针/标记系统阵列。

所述控制缓释标记系统包括标记物和控制缓释剂。本发明所述的控制缓释剂是指具有控制或参与控制标记物释放的速度和滞后的性质的物质，例如通过其可控网络密度涨落而释放标记物的扩散控制缓释剂、通过其可控降解而释放标记物的化学反应控制缓释剂、通过其被溶剂可控活化（例如溶解）而释放标记物的溶剂活化控制缓释剂、通过膜内吸水膨胀物质而使包膜胀裂崩解而快速释放出标记物的可控释放剂、等等。通过利用扩散控制缓释系统，标记物由于扩散控制缓释剂（例如溶胀性适中的聚合物）网络密度涨落而释放；通过利用化学反应控制缓释系统，标记物由于化学反应控制缓释剂（例如可降解的聚合物）降解而释放；通过利用溶剂活化控制缓释系统，标记物由于溶剂活化控制缓释剂（例如包膜）被溶剂活化（例如溶解）而释放。例如，由标记物均匀分散或包埋在水溶性适中的聚合物（控制缓释剂）中形成的扩散控制标记系统，其中标记物释放的速度由聚合物溶胀或溶解速度控制，以满足检测过程中不同步骤对标记物浓度的不同需要。又例如，由标记

物均匀分散或包埋在可降解的聚合物中(控制缓释剂)形成的化学反应控制标记系统,其中标记物释放的速度,在加样时实际上为零,在标记时由于加入降解剂(例如酶)而使聚合物降解从而使标记物释放出来。又例如,由标记物与包膜(控制缓释剂)形成的溶剂活化控制标记系统,其中标记物释放的速度、滞后由包膜溶胀或溶解速度控制。

在根据本发明的芯片中,所述控制缓释标记系统凸体包括所述标记物与控制缓释剂形成的单重或多重夹心结构,所述夹心结构是指浓度分布在内部高于外部的结构。在多重夹心结构中,可以含有一种或多种标记物及一种或多种控制缓释剂,如第一重为标记物第二重为增强剂的结构。

所述控制缓释剂包括水可溶性或水溶液可致崩解的有机物。水可溶性有机物包括天然水溶性有机物、半合成水溶性有机物及合成水溶性有机化合物等。所述有机物包括下述一种或多种物质:碳水化合物及其衍生物、植物淀粉及改性淀粉、植物胶、动物胶、改性纤维素、聚合物和缩合物。

在根据本发明的芯片中,所述保护元件包括下述一种或多种材料:有机材料膜、片,金属-有机材料复合膜、片,玻片。该保护元件与所述反应器通过包括下述一种或多种可逆或不可逆密封结构连接:热密封结构、化学密封结构、及可逆或不可逆粘胶层。在本发明中,所述保护元件作了方便去封闭的预切割。

根据本发明的另一个方面,其提供一种分析芯片,该芯片包含一个或一个以上的多个高度最小化反应器,所述反应器至少包括探针、片基探针区、高度最小化的开放式隔离结构、及任选的反应器保护结构,而且所述开放式隔离结构包括相对于片基探针区其高度  $0.1-1000\ \mu\text{m}$ 、优选  $0.1-500\ \mu\text{m}$  的高疏水凸体或/和吸水凸体,及宽度  $0.2-3.0\ \text{mm}$  的片基空白区,其中所述片基探针区和片基空白区在同一片基同一平面上且表面静态水接触角为  $40-80^\circ$ ,所述高疏水凸体和吸水凸体至少其部分表面分别含高疏水材料和吸水材料,所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大  $40^\circ$  以上,所述吸水材料的吸水率大于  $0.1\ \text{g/g}$ 。实际上,这种分析芯片包括本发明的高疏水隔离结构分析芯片、吸水隔离结构分析芯片、高疏水/吸水隔离结构分析芯片。本发明的隔离结构可应用于所有的芯片类型,例如反应池之间的最小距离比其延伸线上的反应池宽度长  $20\%$  以上的芯片;含加液结构或/和出液结构的芯片;反应器加液区和/或出液区中可

包含有下列一种或一种以上的控制反应介质定向流动速度的结构的芯片;双面芯片;等等。本发明的隔离结构中包含有与片基探针区位于同一平面、宽度大于 0.2 mm 的片基空白区,这对于芯片而言是重要、不可或缺的。同酶标板等固定一种探针的装置不同,芯片反应器中固定的通常是不同探针的阵列,要求阵列中每一探针的反应环境具均一性。而高疏水凸体或吸水凸体或高疏水/吸水复合凸体的存在,将改变其周围确定宽度的区域内的反应条件。因而,在片基探针区与凸体之间必需要有一个不固定有效探针的空白区。经过我们大量的实验发现,此一空白区的宽度主要决定于凸体高度和高疏水材料表面静态水接触角或吸水材料吸水率。这里的凸体,可在片基表面上构成不同的几何图案,例如单线、多线、带、格子等。高疏水/吸水复合凸体的一个例子是:距片基探针区较远处为高疏水凸体而较远处为吸水凸体。在该芯片中,所述反应器为开放式反应器,其中开放式隔离结构所包括的高疏水凸体、吸水凸体以及保护结构与以上所述相同。

根据本发明的再一个方面,其提供一种分析芯片,该芯片包含一个以上的多个高度最小化的开放式反应器,所述反应器为非流动式反应器、且至少包括探针、片基探针区、高度最小化的开放式隔离结构、及任选的反应器保护结构,而且所述开放式隔离结构为宽度 1—10 mm 的片基空白区及任选的相对于片基探针区其高度 0—1000  $\mu\text{m}$ 、优选 0—500  $\mu\text{m}$  的疏水凸体,其中:所述片基探针区和片基空白区在同一片基同一平面上且吸水率小于 0.1 g/g、表面静态水接触角为 40—80 度,所述疏水凸体至少其部分表面含疏水材料,所述疏水材料其表面静态水接触角为 55—80 度。实际上,这种分析芯片是本发明的空白隔离结构分析芯片。与很多人的想象不同,我们通过反复试验非常惊奇地发现,即使没有隔离凸体,当有宽度 1—10 mm 的片基空白区时,在优选的加液量(例如 10  $\mu\text{m}$  加在 16 mm<sup>2</sup> 上)和反应条件下(例如 37°C 30 分钟),反应时并不发生交叉污染。残留反应物可通过吸水物吸、吸管吸、甚至直接冲洗,而不发生交叉污染。本发明的空白隔离结构分析芯片中,任选的疏水凸体并不是隔离主体,而往往作为标记线或/和隔离辅助物而使用。在该芯片中,所述反应器为开放式反应器,其中开放式隔离结构所包括的高疏水凸体、吸水凸体以及保护结构与以上所述相同。

根据本发明的再一个方面,其提供一种分析芯片,该芯片包含一个或一个以上的多个高度最小化的反应器,所述反应器为流动式或非流动式反应

器,且至少包括一个或多个高度最小化的毛细宽带反应腔室、及任选的反应器保护结构,而且:所述毛细宽带反应腔室其高度小于 $1000\mu\text{m}$ 、优选小于 $500\mu\text{m}$ ,包括:分别由顶面元件和底面元件提供的宽度大于 $600\mu\text{m}$ 的顶面和底面、固定在所述顶面或/和底面上的片基探针区内的探针、所述顶面和底面之间的封闭式隔离结构及进液口和出液口,且所述顶面和底面的尺寸、间距和材质的选择使得反应介质可以在所述腔室中形成毛细现象,其中所述片基探针区其吸水率小于 $0.1\text{g/g}$ 且表面静态水接触角为 $40-80$ 度。实际上,这种分析芯片是本发明的毛细宽带反应腔室分析芯片。所述反应器为流动式或非流动式反应器。从探针固定情况看,其至少包括三种情况:探针固定在底面元件包括的片基上、探针固定在顶面元件包括的片基上、探针分别固定在底面元件和顶面元件包括的片基上。从入液口、出液口位置看,其也至少包括三种情况:它们可分别在底面元件上、在顶面元件上、在底面元件和顶面元件之间。本发明的毛细宽带反应腔室分析芯片与目前的封闭式流动芯片、微通道芯片、及毛细管芯片的不同之处,参考上述本发明的毛细宽带反应腔室与这些现有芯片的反应器的不同之处。

在该芯片中,所述毛细宽带反应腔室和保护结构与以上所述相同。

根据本发明的又一个方面,其提供一种分析芯片,该芯片包含一个或一个以上的多个高度最小化反应器,所述反应器为流动式或非流动式反应器,其至少包括探针、片基探针区、相对于片基探针区其高度其高度 $1-1000\mu\text{m}$ 、优选 $1-500\mu\text{m}$ 的凸流路、及任选的反应器保护结构,而且所述凸流路为宽度 $5-4000\mu\text{m}$ 的高亲水凸体,其中:所述片基探针区其吸水率小于 $0.1\text{g/g}$ 且表面静态水接触角为 $40-80$ 度,所述高亲水凸体为至少部分表面分别含高亲水材料的凸体,所述高亲水材料的表面静态水接触角小于 $40$ 度。实际上,这种分析芯片是本发明的凸流路分析芯片,其中的凸流路可连通下列一种及多种结构:样品池、试剂池、检测池、废液池、分离器、等等。所述反应器为流动式或非流动式反应器。本发明的凸流路分析芯片与现有微流路分析芯片的不同,参考上述本发明的凸流路与现有微流路的不同之处。同样,其凸流路和保护结构与以上所述相同。

在该芯片中,所述反应器为开放式反应器,该反应器包括如上所述的开放式隔离结构。

根据本发明的另一个方面,其提供一种分析芯片,该芯片包含一个或一

个以上的多个高度最小化反应器，所述反应器至少包括探针、片基探针区、标记系统凸体、及任选的反应器保护结构，所述标记系统凸体为不掩蔽所述探针的含标记物的凸体。实际上，这种分析芯片是本发明的固定化标记物分析芯片。在该芯片中，所述反应器为开放式反应器，而且其中的标记系统凸体和保护结构都与以上相同。

根据本发明的另一个方面，其提供一种分析芯片，该芯片包含一个以上的多个高度最小化的反应器，所述反应器包括易拆零片基或/和高度最小化的反应器保护结构，其中：所述易拆零片基为在使用时容易按需拆离的片基，所述保护结构包括与所述探针所在平面间距小于  $1000\ \mu\text{m}$ 、优选小于  $500\ \mu\text{m}$  的保护元件，所述保护元件在不欲加入样品时封闭全部或部分反应器结构、在欲加入样品时其被全部或部分不可逆地去除。实际上，这种分析芯片是本发明的可零用分析芯片，其包括两种类型：拆零芯片和开零芯片。前者使用，易拆零片基（例如预作切割处理的活化玻片、金属片、塑料片、等等），后者使用反应器封闭元件（例如通过机械切割加工有易吸脱区域的塑料片、铝塑膜和有无易吸脱区域的塑料薄膜、等等）。该芯片的保护结构与以上所述相同。

根据本发明的另一个方面，其提供一种高密度反应器分析芯片，其中一个片基的至少一个面上的反应器密度大于  $2\ \text{个}/\text{cm}^2$ 、优选大于  $3\ \text{个}/\text{cm}^2$ ，且所述反应器的隔离结构的高度小于  $1000\ \mu\text{m}$ 、优选小于  $500\ \mu\text{m}$ 。在该芯片中，反应器的密度优选大于  $5\ \text{个}/\text{cm}^2$ 。更优选的是，所述反应器为如上所述的隔离高度最小化的反应器。

本发明还涉及用于以上芯片中的顶面元件或底面元件，该顶面元件或底面元件包括所述片基探针区及其内固定的所述探针。例如，形成上述毛细宽带反应腔室的顶面元件或/和底面元件，所述元件除含有所述片基探针区及探针外，还可含有部分或全部腔室壁、部分或全部进液口和出液口、部分或全部密封结构（例如弹性涂层和阻湿润涂层）、和其它芯片结构（例如定位结构）。所述顶面元件的材料可以是选自于以下之一或任意两种或两种以上的组合：玻璃、硅、金属氧化物、金属和聚合物材料及它们各自的衍生物。

本发明还涉及用于以上芯片中的基片，其包括一个以上的多个片基探针区及下述一种或一种以上的多种反应器结构。

根据本发明的另一个方面，其提供一种定性或/和定量分析方法，该方

法包括：(a) 将样品加入分析芯片开放式反应器并在其中反应；(b) 所述反应完成后不将剩余样品从所述反应器中吸出即直接进行下一步操作，所述下一步操作包括洗涤或标记。在该方法中，所述开放式芯片为如上所述的开放式多反应器芯片。

本发明还涉及一种定性或/和定量分析方法，该方法包括：(a) 将样品加入分析芯片反应器并在其中进行探针选择性反应和标记反应；(b) 洗涤并分析所述反应的结果。在该方法中，所述芯片为如上所述的芯片。

根据本发明的另一个方面，其提供一种检测装置，该装置包括将芯片反应器中反应完成后的剩余物净化的部件，所述部件是通过用吸水率大于 0.5 g/g 的吸水物吸收、或/和将所述芯片与水平面形成一夹角直接冲洗来进行所述净化的，所述夹角大于 5 度。

本发明的高集成度分析芯片的优点是：制作简易、成本较低、隔离可靠、介质分布均匀、消耗反应介质少，灵敏度高、操作方便等。

本发明的高疏水隔离结构分析芯片、吸水隔离结构分析芯片、高疏水/吸水复合隔离结构分析芯片、和空白隔离结构分析芯片的优点是：由于实现了隔离结构高度最小化，可以使得反应器数目最大化和/或样品加入量最小化和/或易于洗涤更容易实现，且可用共聚焦激光扫描仪或激光扫描仪直接扫描。

本发明的毛细宽带反应腔室芯片的优点是：既克服了封闭式腔室芯片的介质分布不均（例如出气泡）及所需样品和标记物较多的弱点、又克服了毛细管芯片生产复杂成本高的弱点，具有制作简便，灵敏度高，消耗反应介质少，操作方便等优点。

本发明的凸流路芯片的优点是：可通过凸体材质选择控制流速，且加工方便成本低。

本发明的固定化标记物分析芯片的优点是：通过引入控制缓释标记系统，可以减小虎克现象影响从而提高检测方法和装置的灵敏度；可以减少操作步骤及机械输运系统以提高检测及检测装置的效率，降低了检测自动化的难度；由于在干燥状态，可以有更高的标记物稳定性。

本发明的可零用分析芯片的优点是：根据一次检测的需要在一个芯片上仅使用部分反应器而不影响其它反应器的保存，可以降低检测成本。



## 附图说明

图 1A 是根据本发明的一种多毛细宽带反应腔室芯片的示意图；  
图 1B 是图 1A 所示芯片沿 a-a 线的剖面图；  
图 2A-2E 是本发明芯片的各种反应器及结构的示意图；以及  
图 3A 和 3B 是本发明毛细宽带反应腔室密封结构的底面元件的俯视图，而图 3C 和 3D 是其顶面元件的仰视图。

- |            |           |           |
|------------|-----------|-----------|
| 1、毛细宽带反应腔室 | 2、反应器结构   | 3、标记系统凸体  |
| 4、开放式隔离结构  | 5、顶面      | 6、底面      |
| 7、片基探针区    | 8、封闭式隔离结构 | 9、进液口     |
| 10、出液口     | 11、顶面元件   | 12、底面元件   |
| 13、顶面进液结构  | 14、顶面出液结构 | 15、顶面定位结构 |
| 16、顶面密封元件  |           |           |

## 具体实施方式

### 术语定义

本发明术语“分析芯片”简称为“芯片”，包括但不限于英语中的 Biochip、Microarray、Bioarray，是指定性和/或定量分析中的一种检测装置，其反应器中微量配基同样品中的目标分子发生特异反应的结果可以以可寻址的方式进行识别。芯片包括微通道芯片（相当于英语中的 Microchannel Biochip）和微阵列芯片（相当于英语中的 Biochip、Microarray、Bioarray），但众所周知不包括现有的快检试剂条。本发明的芯片含有单反应器或多反应器且有无标记系统，反应器中配基在片基上的分布密度大于 10 点/cm<sup>2</sup>，且每个配基点的面积不大于 1 mm<sup>2</sup>。

本发明术语“检测装置”是指定量或/和定性检测过程中所用的包含有用以同样品目标物作用的配基的用品，例如含有捕获配基的仪器、耗材和含有捕获配基和标记配基的标记试剂盒。例子有分析芯片、酶标板、亲和电泳条、亲和层析柱、平面层析试剂条、分析芯片试剂盒、酶标板试剂盒、亲和电泳试剂盒、等等。定量或/和定性检测过程可以在体外进行、也可以在体内进行。

本发明术语“探针”是指所有可以以可寻址的方式固定在固相载体上的、

具有捕捉样品中的目标物的活性的物质，例如 DNA、多肽、细胞、组织等生物成分。

本发明术语“配基”相当于英文的 Ligand，是指用以通过相互作用（包括亲和作用、离子交换、亲油作用、等等）捕获其配体（相当于英文的 Ligate）、且可以与标记物质结合形成标记物的物质，例如下述之一种或多种物质：抗原、抗体、配体、配体指数增强系统进化技术筛选的适配分子、配基、多肽、多糖、共酶、辅因子、抗生素、类固醇、病毒、细胞、生物素、亲和素等。

本发明术语“标记物质”是指用以形成或参与形成检出信号的物质，例如芯片检测常用标记物中的罗丹明、CY3、CY5 等。

本发明术语“片基”是指芯片中用以固定探针的固相载体。

本发明术语“反应室”是指反应器中探针与目标物的反应的场所。反应室包括反应池和反应腔室。反应池特指反应时探针阵列上方为开放的反应场所。反应腔室特指反应时探针阵列上方为封闭的反应场所。反应池包括片基池和探针。反应腔室包括片基腔室和探针。片基池和片基腔室都包括片基与反应器隔离结构。

本发明术语“反应器”是指探针与目标物的反应的场所及与之连通的全部结构组成的整体。反应器包括边界或隔离结构、片基、固定在片基上的探针、及相连通的其它相关结构（例如流路、进液结构、出液结构、固定化标记物、等等）。此外，本发明中：按照芯片上反应器的数目  $n$ ，芯片被定义为单反应器芯片（ $n=1$ ）和多反应器芯片（ $n$  等于或大于 2）；按照检测过程中所加入的液相介质能否在反应器中定向流动，反应器被定义为流动反应器和非流动反应器，且将以流动反应器和非流动反应器为特征的芯片分别定义为流动芯片和非流动芯片；按照反应器探针阵列上方在整个检测过程中是否开放，将反应器分别定义为开放式和非开放式反应器，且将以此反应器为特征的芯片分别定义为开放式和非开放式芯片。芯片反应器通常同时具有上述几种反应器的性质。本发明中，这些反应器被定义为以其所具有的全部性质为共同特征的反应器，以此反应器为特征的芯片也被同样地定义。例如，如果在检测过程中探针阵列上方为无覆盖物的开放结构，且所加入的液相介质能在反应器中定向流动，则该反应器被定义为开放式流动反应器，相应的芯片被定义为开放式流动芯片，或简称开放式流动芯片；其它以次类推。

本发明术语“基片”是指用以制备芯片的、尚未固定探针的中间产品，

其以片基为基础、结合有无其它结构（例如隔离结构）、且在固定配基后形成芯片。基片上可以有一个或多个片基室。单片基室基片上通常没有隔离结构，此时基片既是片基（例如市售的氨基玻片）。多片基室基片上有隔离结构，此时基片包括片基和隔离结构。片基室在固定上配基后形成反应器，多片基室基片形成多反应器芯片。

本发明术语“反应器结构”是指形成反应器的必须的片基、探针以外的其它结构，如隔离结构、流路结构等。

本发明术语“凸体”是指相对于片基探针区平面高度大于 0 的隆起结构，例如涂层、粘合体、等等。

本发明术语“反应器隔离结构”是指至少在加入样品时避免反应器之间出现交叉污染的结构，包括用以隔离部分或全部反应器结构（例如反应池、反应腔室、流路、进液结构、出液结构、等等）的结构。反应器隔离结构包括开放式隔离结构和封闭式隔离结构。开放式隔离结构是指芯片使用时隔离结构上方无覆盖物的反应器隔离结构。封闭式隔离结构是指芯片使用时隔离结构上方有覆盖物的反应器隔离结构。

本发明术语“反应器流路结构”是指芯片反应器中的流路网络。本发明凸流路是指流路中含有吸水或/和高亲水材料而高于基片的凸体流路。

本发明术语“反应器分离结构”是指芯片反应器中的具有样品组分分离功能的结构。

本发明术语“标记系统”是指芯片（包括芯片装置和芯片试剂盒）中用以对芯片反应器中的反应进行标记的系统。

本发明术语“反应器保护系统”是指在芯片的贮、运过程和其上部分反应器的使用过程中使得未使用反应器不与任何反应介质接触且保持其固有活性的系统。反应器保护系统与反应器隔离结构是不同的。

本发明术语“多肽”相当于英语中的“polypeptide”，包括天然或合成蛋白质、蛋白质片断、合成肽、等等，免疫检测中通常的目标物和检测中通用的配基、例如抗原、抗体、等等都属于多肽。

本发明术语“纳米微粒”是指在三维空间中至少有一维小于 500 nm、优选为 1—100 nm 的固相载体微粒。

本发明术语“毛细宽带反应腔室芯片”是指含一个或一个以上的多个毛细宽带反应腔室的芯片。

本发明术语“凸流路芯片”是指含凸流路的芯片。

本发明术语“高疏水隔离结构分析芯片”是指含包括高疏水凸体的隔离结构的芯片。

本发明术语“吸水隔离结构分析芯片”是指含包括吸水凸体的隔离结构的芯片。

本发明术语“空白隔离结构分析芯片”是指含包括宽度为 0.5—10mm 的片基空白区及任选的疏水凸体的隔离结构的芯片。

本发明术语“高疏水/吸水复合隔离结构芯片”是指含包括高疏水/吸水复合凸体的隔离结构的芯片。

本发明术语“固定化标记物分析芯片”是指含固定化标记物的芯片。

本发明术语“可零用分析芯片”是指在一块多反应器芯片上，可根据需要一次仅用一部分反应器而不影响其它反应器的使用性能的芯片。

本发明术语“表面静态水接触角”是指静态水在表面的接触角。长时间以来，用一滴液体在固体物质表面的接触角  $\theta$  作为特定固定湿润的量化测试，这一点是被广为认可的。如果液体完全分散在表面上形成膜，接触角  $\theta$  为 0、如果物质表面上的液珠存在一定角度，该表面被认为是不湿润的。芯片中最常用的固相载体基片材料为玻璃，其表面静态水接触角约为 45 度。

以下将参考实施例以及附图对本发明进行更为详细地描述。但应认识到，本发明实施例仅给出本发明具体实施方式的个别情况的例子。根据这些实施例，本专业的技术人员应当知道本发明具体实施方式的其它情况。

在本发明实施例中的片基包括亲水片基和疏水片基。亲水片基包括用已公开的环氧基化方法自制的环氧基载玻片和环氧基盖玻片。疏水片基为自制的黑漆载玻片（见中国专利申请号 03117645.3）。玻片购自美国 ESCO SCIENTIFIC 公司，载玻片的尺寸为  $75 \times 25 \times 1.0$  mm，盖玻片的尺寸为  $60 \times 24 \times 0.15$  mm。本实施例中的探针购自北京人民医院肝病研究所，分别为 HIV<sub>1+2</sub> 抗原、HBs 抗原、HCV 抗原和 HBs 抗体，它们的点样浓度均在 1.0—1.5 mg/ml 之间。在本实施例中，1 号样为 HCV 抗体阳性血清，2 号样为 HIV<sub>1+2</sub> 抗体阳性人血清，3 号样为 HBs 抗体阳性人血清，4 号样为 HBs 抗原人血清，5 号样品为阴性对照物。所有的样品，均是经使用经典的单反应器开放式芯片在同等反应条件下预先检测确定的。

## 实施例 1: 高疏水隔离结构分析芯片的制备及应用

在本实施例中, 所用高疏水液态材料分别为“聚丙烯酸脂涂料”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 85 度)、“有机硅防水涂料”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 116 度)、“超高疏水乳胶漆”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 123 度)和“高疏水氧化硅涂料”(中国舟山明日纳米材料公司提供, 静态水接触度 151 度), 所用高疏水固态材料分别为“聚四氟乙烯不干胶带”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 117 度)和“纳米纺织物”(中国舟山明日纳米材料公司提供, 静态水接触度 155 度)。尽管本发明的反应器的隔离结构可以部分是、也可以全部是本发明的高疏水隔离结构, 本实施例中只给出了最为简单的情况作为例子。其它情况的例子还可在后面的实施例中出现。

### 1) 高疏水隔离结构片基的制备

#### (1) 高疏水液态材料固化法制备高疏水隔离结构分析芯片片基

将上述高疏水液态材料涂抹在环氧基载玻片上反应器边界位置上, 按供货方的使用说明在室温干燥后固化, 形成高度 25—115  $\mu\text{m}$ 、宽度 2.0—2.5mm 的高疏水凸体。高疏水凸体可以有不同几何图型, 本例中仅取带状(凸体为一条带)和线组合(例如凸体为有间隔的 2 条线)2 种。高疏水凸体包围的表面可以取各种几何图型, 本例中仅取 3mm $\times$ 3mm 矩形。在基片此一表面上, 横向共有 10 个片基池, 纵向有个片基池, 共有 20 个片基池。

#### (2) 高疏水固态材料固定法制备高疏水隔离结构分析芯片片基

将上述高疏水固态材料分别粘合在环氧基载玻片上反应器边界位置上, 形成高度 105—435 $\mu\text{m}$ 、宽度 2.0—2.5mm 的高疏水凸体。高疏水凸体包围的表面可以取各种几何图型, 本例中高疏水凸体包围的表面为 3mm $\times$ 3mm 矩形。在基片此一表面上, 横向共有 14 个片基池, 纵向有 4 个片基池, 共有 56 个片基池。

### 2) 高疏水隔离结构分析芯片的制备

实际上, 本发明的芯片可以先固定探针再制备高疏水凸体, 也可以先制备高疏水凸体得到上述片基再固定探针。本例使用后一方法。在上述片基池

内距高疏水凸体 0.5mm 以外的片基探针区内, 用公知的探针点样方法将上述 3 种抗原分别固定上去。每种抗原点 3 个点, 形成一个  $3 \times 3$  探针阵列。芯片用牛血清白蛋白封闭后备用。完成后的反应器 2 的结构如图 2A 所示, 其包括片基探针区 7 和开放式隔离结构 4。

### 3) 高疏水隔离结构分析芯片的鉴定及应用

实验时取上述芯片每种各 10 个, 并对其反应池进行编号, 每个芯片上横向和纵向单数反应池内加入由 1、2、3 号样品等量混合形成的阳性血清, 横向和纵向偶数反应池内加入阴性对照血清。标记物为按公知方法自制的罗丹明标记的鼠单抗。实验时, 加样量为  $10\mu\text{l}$ , 标记物加入量为  $10\mu\text{l}$ 。加样反应后, 不需像酶标板洗涤那样将反应池中的未固定物吸尽后再洗涤, 而是按下述方法之一洗涤: (a) 使反应池轻轻接触吸水纸吸尽未固定物, 然后用洗涤液冲洗一分钟; (b) 将玻片转动与水平面成  $45^\circ$  角, 从上向下喷射洗涤液冲洗一分钟; (c) 将玻片转动与水平面成  $180^\circ$  角, 从下向上喷射洗涤液冲洗一分钟。加标记物及洗涤、干燥按公知方法进行。干燥后在进行扫描。扫描仪为共聚焦激光扫描仪 (Afymetrix 公司 GMS 418 芯片扫描仪), 扫描激发光波长  $532\text{nm}$ , 发射光波长  $570\text{nm}$ , 读取的信号经处理软件 (JAGUAR<sup>®</sup>) 处理。定义交叉污染率为所获结果与加入样品不符的反应池数目除以所考察的反应池总数, 实验结果如表 2。

表 2

芯片	高疏水材料	片基	凸体厚度	凸体结构	空白距离	交叉污染率
1	聚丙烯酸脂涂料	环氧基载玻片	75-105 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
2	有机硅防水涂料	环氧基载玻片	20-115 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
3	有机硅防水涂料	环氧基载玻片	20-89 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
4	有机硅防水涂料	环氧基载玻片	15-106 $\mu\text{m}$	线组合	>500 $\mu\text{m}$	0
5	超高疏水乳胶漆	环氧基载玻片	75-105 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
6	高疏水氧化硅涂料	环氧基载玻片	65-89 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
7	聚四氟乙烯不干胶带	环氧基载玻片	120 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
8	纳米纺织物	环氧基载玻片	400 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0
9	纳米纺织物	黑漆载玻片	400 $\mu\text{m}$	带状	>500 $\mu\text{m}$	0

### 实施例 2：吸水隔离结构分析芯片的制备及应用

在本例中，所用吸水材料分别为“淀粉接枝丙烯酸吸水膜（厚度 80—100 $\mu\text{m}$ ，吸水率 450g/g，晨光化工设计院提供）”、“吸水纸（厚度 80—100 $\mu\text{m}$ ，吸水率 150g/g，晨光化工设计院提供）”和“壳聚糖接枝丙稀腈吸水膜（厚度 80—100 $\mu\text{m}$ ，吸水率 220g/g，晨光化工设计院提供）”。尽管本发明的反应器的隔离结构可以部分是、也可以全部是本发明的吸水隔离结构，本例中只给出了最为简单的情况作为例子。

#### 1) 吸水隔离结构片基的制备

将上述吸水固态材料打出直径 3mm 的园孔后分别粘合在环氧基载玻片上反应器边界位置上，形成直孔为 3mm 的孔及高度 105—435 $\mu\text{m}$ 、宽度 2.0—2.5mm 的吸水凸体。吸水凸体可以有不同几何图型，本例中仅取带状（凸体为一条带）。在基片此一表面上，横向共有 10 个孔，纵向有 2 个孔，共有 20 个孔（片基池）。

#### 2) 吸水隔离结构分析芯片的制备

制备方法同实施例 1 中高疏水隔离结构分析芯片的制备。芯片用牛血清

白蛋白封闭后、干燥备用。

### 3) 吸水隔离结构分析芯片的鉴定及应用

实验时取上述芯片每种各 10 个, 并对其反应池进行编号, 每个芯片上横向和纵向单数反应池内加入由 1、2、3 号样品等量混合形成的阳性血清, 横向和纵向偶数反应池内加入阴性对照血清。每个反应池的加样量为 7 $\mu$ l, 标记物加入量为 7 $\mu$ l。实验方法同实施例 1。定义交叉污染率为所获结果与加入样品不符的反应池数目除以所考察的反应池总数。本例中制备的芯片上交叉污染率都为零。

### 实施例 3: 空白隔离结构分析芯片的制备及应用

在本例中, 所用疏水材料分别为“黑色聚丙烯酸脂涂料”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 78 度) 和“黑漆”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 76 度)。所用片基为环氧基载玻片。尽管本发明的反应器的隔离结构可以部分是、也可以全部是本发明的空白隔离结构, 本例中只给出了最为简单的情况作为例子。

#### 1) 有标记线的空白隔离结构片基的制备

将上述疏水材料涂在环氧基载玻片上反应器边界位置上, 形成高度 30—40 $\mu$ m、宽度 500—1000 $\mu$ m 的黑色标记线。在基片此一表面上, 横向共标记有 14 个片基池, 纵向有 4 个片基池, 共有 56 个片基池。

#### 2) 空白隔离结构分析芯片的制备

##### (1) 纯空白隔离结构分析芯片的制备

纯空白隔离结构分析芯片的空白隔离结构不含疏水凸体, 直接在片基平面上固定多个探针阵列而成。本例中每个探针阵列的固定同于实施例 1。横向共固定有 10 个探针阵列, 纵向有 2 个探针阵列, 共有 20 个探针阵列。任两个探针阵列之间有宽度为 4.5mm 的空白区。芯片用牛血清白蛋白封闭后备用。



## (2) 有标记线的空白隔离结构分析芯片的制备

利用上述制备的有标记线的空白隔离结构片基制备,制备方法同于实施例 1。

## 3) 空白结构分析芯片的鉴定及应用

实验时取上述芯片每种各 10 个,并对其反应池进行编号,每个芯片上横向和纵向单数反应池内加入由 1、2、3 号样品等量混合形成的阳性血清,横向和纵向偶数反应池内加入阴性对照血清。每个反应池的加样量为 7 $\mu$ l,标记物加入量为 7 $\mu$ l。实验方法同实施例 1。定义交叉污染率为所获结果与加入样品不符的反应池数目除以所考察的反应池总数。本例中制备的芯片上交叉污染率都为零。

## 实施例 4: 高疏水/吸水复合隔离结构分析芯片的制备及应用

在本例中,所用高疏水液态材料为“有机硅防水涂料”(中国成都晨光化工设计院提供,静态水接触度 116 度),所用吸水材料为“淀粉接枝丙烯酸吸水膜(厚度 80—100 $\mu$ m,吸水率 450g/g,晨光化工设计院提供)”。尽管本发明的反应器的隔离结构可以部分是、也可以全部是本发明的高疏水隔离结构,本例中只给出了最为简单的情况作为例子。

### 1) 高疏水/吸水隔离结构片基的制备

将上述吸水固态材料打出直孔为 3mm 的孔后,将所述高疏水涂料涂在靠近孔 0.5—1.0mm 的地方,然后粘合在环氧基载玻片反应器位置上,形成直径为 3mm 的孔及高度 105—435 $\mu$ m、宽度 2.0—2.5mm 的高疏水/吸水凸体。在基片此一表面上,横向共有 10 个孔,纵向有 4 个孔,共有 20 个孔(片基池)。

### 2) 高疏水/吸水隔离结构分析芯片的制备

制备方法同实施例 1 中高疏水隔离结构分析芯片的制备。芯片用牛血清白蛋白封闭后、干燥备用。

### 3) 高疏水/吸水隔离结构分析芯片的鉴定及应用

实验时取上述芯片每种各 10 个, 并对其反应池进行编号, 每个芯片上横向和纵向单数反应池内加入由 1、2、3 号样品等量混合形成的阳性血清, 横向和纵向偶数反应池内加入阴性对照血清。每个反应池的加样量为 7 $\mu$ l, 标记物加入量为 7 $\mu$ l。实验方法同实施例 1。定义交叉污染率为所获结果与加入样品不符的反应池数目除以所考察的反应池总数。本例中制备的芯片上交叉污染率都为零。

### 实施例 5: 缓释标记分析芯片的制备及应用

本发明的缓释标记分析芯片实际上是芯片反应器中包含有标记物控制释放体系的芯片。同药物控制释放体一样, 本发明的标记物控制释放体系也包括程序式药物释放体系和智能式药物释放体系, 智能式药物释放体系包括外部调节式药物释放体系和智能凝胶。现有的药物控制释放体系的制备方法, 可用于本发明的标记物控制释放体系的制备。程序式药物释放体系中溶剂溶化体系的制备中的现有方法, 包括用  $\text{Ca}^{2+}$  离子交联的对羟基苯甲酸聚磷腈水凝胶微球包埋药物法, 聚乳酸中空体包埋药物和发泡剂法, 水溶性聚合物如 HPC、HPMC 微球色理法, 或智能式药物释放体系中的外部调节式(通过光、热、PH 值、电磁、超声波等), 药物释放体系的制备方法。

尽管本例中只给出最为简单的制备例子来说明本发明的标记物控制释放体系的制备, 专业人士应知道, 利用药物控制释放体系的制备方法可以制备很多种类的本发明的标记物控制释放体系。

#### 1) 某些溶剂活化控制缓释系统中标记物的半释期

在本例中, 控制缓释标记系统由控制缓释剂及赋形剂形成的膜包裹粉状标记物而形成。标记物为酶标记羊抗人二抗(北京天坛生物制品股份有限公司), 控制缓释剂为厚度 80—100 $\mu$ m 的水溶性有机物(见表 3)。控制缓释系统活化方式为溶解, 溶剂为 PBS 缓冲液。先将适当浓度的控制缓释剂溶液涂在载玻片上形成尺寸 1mm $\times$ 1mm $\times$ 0.1mm(长 $\times$ 宽 $\times$ 高)的涂层, 干燥后将标记物浓溶液涂在此涂层内。标记物干燥后将控制缓释剂浓溶液涂覆包裹标记物, 干燥后备用。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 加入定量的溶剂于控制缓释标记系统,

然后在不同时间抽出已溶部分,再利用抗体一二抗反应测定溶出的标记物而计算出半释期。几种溶剂活化控制缓释系统中标记物的半释期如表 3 所示。

表 3

控制缓释剂	半释期 (分钟)
淀 粉	2
明 胶	3
羟丙基甲基纤维素	5
羟丙基纤维素	12
阿拉伯胶	15

## 2) 缓释标记分析芯片的制备

本例缓释标记分析芯片中的标记系统凸体中的标记物为罗丹明标记的羊抗人二抗, 控制缓释剂为阿拉伯胶和乙基纤维素, 所用基片为实施例 1 中制备的基于环氧基载玻片的高疏水隔离结构分析芯片基片。

### (1) 标记系统凸体固定在反应器中探针阵列周围

先按实施例 1 的芯片制备方法将上述三种抗原探针固定于基片片基池中形成探针阵列, 然后用牛血清白蛋白溶液封闭。再将适当浓度阿拉伯胶涂在反应池底沿周边形成宽 1mm 的带子, 干燥后将含有淀粉赋形的标记物涂在阿拉伯胶带内, 干燥后将阿拉伯胶涂覆包裹标记物, 干燥后备用。所得标记系统凸体厚度 350—480 $\mu$ m。完成后的反应器的结构如图 2E 所示, 其中标记系统凸体 3 在片基探针区外, 而且该标记凸体外是开放式隔离结构。如图 2B 所示, 标记凸体外也可以是封闭的式隔离结构。试验测得标记物的半释期在 37 $^{\circ}$ C 为 15 分钟。

### (2) 标记系统凸体固定在探针阵列内形成探针/标记系统阵列

按照实施例 1 的探针点样方法, 将含有适当浓度明胶的标记物溶液 (1mg 二抗/ml) 和上述三种抗原探针溶液分别点至上述基片片基池中形成探针/标记物阵列。完成后的反应器的结构如图 2C 和 2D 所示, 在片基探针区内有探针/标记系统凸体 3 阵列, 其外是开放式隔离结构。试验测得控制

缓释标记系统的 37℃半释期约为 3 分钟。

### 3) 缓释标记分析芯片的应用

实验时, 4 种样品分别加入上述含控制缓释标记系统的芯片, 每种样品加 2 个反应池。加样时样品作适当稀释, 加样量为 5 $\mu$ l, 孵育温度 37℃, 孵育时间 5 分钟。洗涤液每次加入量为 15 $\mu$ l, 洗涤 3 次。然后, 加入 15 $\mu$ l 稀释液, 孵育温度 37℃, 孵育时间 5 分钟。反应后以 15 $\mu$ l 洗涤液洗涤 5 次。干燥后进行扫描 (Afymetrix 公司 GMS 418 芯片扫描仪), 数据处理后得到结果如表 4。

表 4

方 法		标准 ELISA 法	缓释标记法
HCV 抗体阳性血清	HCV 抗体	+	+
	HIV 抗体	-	-
HIV 抗体阳性血清	HCV 抗体	-	-
	HIV 抗体	+	+
阳性对照物	HCV 抗体	+	+
	HIV 抗体	+	+
阴性对照物	HCV 抗体	-	-
	HIV 抗体	-	-

“+”为阳性结果, “-”为阴结果。

### 实施例 6: 凸流路分析芯片的制备及应用

本实施例给出以高亲水材料制备微流路的例子。本发明的高亲水微流路芯片, 与目前微流路芯片的主要区别在于利用高亲水材料表面作为微流路的重要组成。

#### 1) 无隔离结构的高亲水微流路的制备

尽管可供选择的亲水性不同的高亲水材料很多, 本例中仅给出二种材料作为例子。所用液态高亲水材料为“高亲水纳米氧化硅涂料” (中国舟山明日纳米材料公司提供, 静态水接触度 28 度) 和高亲水聚丙烯酸涂料 (成都

晨光化工设计院提供, 静态水接触角 35 度)。

将液态高亲水材料在载玻片表面画出宽约 80—100 $\mu\text{m}$ 、长 10mm 的线条, 干燥后备用。

## 2) 有隔离结构的高亲水微流路的制备

将上述无隔离结构的高亲水微流路两边, 涂上宽度 1mm 的“有机硅防水涂料”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 116 度), 干燥后即制得有隔离结构的高亲水微流路。

## 3) 高亲水微流路的应用

将上述载玻片放置水平, 在上述制备的高亲水微流路的一端加入 10 $\mu\text{l}$  的 PBS 缓冲液, 立即产生类似于毛细现象的现象, 液体从加液端漫流至另一端。

而本发明的微流路, 专业的技术人员是容易应用于微流路芯片中的, 例如 PCR 芯片、微萃取芯片、化学合成芯片、细胞计数芯片、多系统集成芯片, 生物微芯片、多通道集成芯片、毛细管电泳芯片、芯片上实验室 (Lab-On-a Chip), 等等。

## 实施例 7: 可零用分析芯片的制备及应用

本例制备的可零用分析芯片包括两种类型: 拆零芯片和开零芯片。前者使用易拆零片基, 后者使用反应器封闭元件。

### 1) 拆零芯片的制备

本例中用的易拆零片基为通过机械切割加工有易折沟槽的聚苯乙烯片材, 易折沟槽包围的区域的尺寸为 4 $\times$ 4mm, 沟槽宽 1mm、深 0.8mm。将“有机硅防水涂料”(中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 116 度) 涂抹在易折沟槽包围的区域的边界上形成高 80—100 $\mu\text{m}$ 、宽约 1mm 的高疏水凸线, 从而形成片基池。将上述开有易折沟槽的基片的每一个片基池中分别点上上述丙肝融合抗原、HIV<sub>1+2</sub> 融合抗原、HBs 抗原各 3 个点, 形成 3 $\times$ 3 的点阵, 封闭基片未点样的空白区, 干燥备用。同样的制备方法也适于其它基于易拆零片基 (例如, 预作切割处理的活化玻片、金属片、塑料片等) 的

拆零芯片。

## 2) 开零芯片的制备

本例中用的反应器封闭元件包括:通过机械切割加工有易吸脱区域的塑料片、铝塑膜和有无易吸脱区域的塑料薄膜。

在实施例 3 制备的有标记线的空白隔离结构片基上按上述方法点样,在一个基片上形成 20 个反应池,然后在反应池边缘上涂抹高 80—100 $\mu\text{m}$ 、宽约 1mm 的防水不干胶,再将反应器封闭元件贴上。

## 3) 可零用分析芯片的应用

实验时可根据需要,取所需个数的反应池,在上述制备的拆零芯片的预留易折线处折断后使用,或将在上述制备的开零芯片的易吸脱区通过真空吸脱器吸脱形成开放式反应池,或通过机械切割除去反应池上方的覆盖物,而其它反应池仍于保存状态。实验时取上述芯片每种各 10 个,并对其反应池进行编号,每个芯片上横向和纵向单数反应池内加入由 1、2、3 号样品等量混合形成的阳性血清, 横向和纵向偶数反应池内加入阴性对照血清。每个反应池的加样量为 7 $\mu\text{l}$ , 标记物加入量为 7 $\mu\text{l}$ 。实验方法同实施例 1。定义交叉污染率为所获结果与加入样品不符的反应池数目除以所考察的反应池总数。本例中制备的芯片上交叉污染率都为零。

## 实施例 8: 高密度反应器分析芯片的制备及应用

### 1) 高密度反应器分析芯片的制备

本例制备的高密度反应器分析芯片,所用基片为环氧基玻片,用高疏水液态材料“聚丙烯酸脂涂料”(中国成都晨光化工设计院提供,静态水接触度 85 度)涂抹形成高约 100 $\mu\text{m}$ 、宽约 1mm 的高疏水凸体和围成尺寸 2 $\times$ 2mm 的片基池。将上述三种抗原溶液用点样机(GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司)以每种配基 10 个点的形式点到上述预留区域内,形成 5 $\times$ 6 的探针阵列,探针阵列的尺寸(即片基探针区的尺寸)为 1 $\times$ 1 mm。片基上的反应池密度大于 9 个/ $\text{cm}^2$ 。

## 2) 高密度反应器分析芯片的鉴定及应用

实验时取上述芯片 10 个, 并对其反应池进行编号, 每个芯片上横向和纵向单数反应池内加入由 1、2、3 号样品等量混合形成的阳性血清, 横向和纵向偶数反应池内加入阴性对照血清。每个反应池的加样量为 5 $\mu$ l, 标记物加入量为 7 $\mu$ l。实验方法同实施例 1。定义交叉污染率为所获结果与加入样品不符的反应池数目除以所考察的反应池总数。本例中制备的芯片上交叉污染率都为零。

## 实施例 9: 毛细宽带反应腔室芯片的制备及应用

### 1) 毛细宽带反应腔室单面芯片的制备

本例中制备的无保护元件的毛细宽带反应腔室单面芯片记作 A1 (如图 1 所示), 有保护元件的毛细宽带反应腔室单面芯片记作 A2。

含有探针的元件的制备: 在上述片基上, 用高疏水材料 (有机硅高疏水涂料, 成都晨光化工研究院) 将预留的 8 个进液区和出液区按照图 1 涂上隔离带, 每个片基池宽 4mm。待其过夜干燥后, 将上述 HCV 融合抗原和 HIV 融合抗原溶液用点样机 (GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司) 以每种配基 3 个点的形式点到上述预留区域内, 形成 3 $\times$ 3 的探针阵列。在 37 $^{\circ}$ C 下包被反应 3 小时后, 经小牛血清封闭, 清洗干燥后备用。

毛细宽带反应腔室的形成: 所用顶面元件 11 为上述盖玻片 (尺寸 60 $\times$ 12.5 $\times$ 0.15mm), 所用底面元件 12 为上述制备的含有探针的元件。顶面元件 11 与底面元件 12 的结合, 采用胶粘法。所用胶粘剂为二元还氧树脂 (万能粘合剂, 成都晨光化工研究院)。将胶粘剂按使用说明书薄涂在含有片基的元件的超疏水涂层上, 再将另一元件粘上去。所制备的毛细宽带反应腔室芯片, 其毛细宽带反应腔室 1 的宽度为 4000 $\mu$ m, 顶面 5 与底面 6 之间的间距为 80 $\mu$ m, 毛细宽带反应腔室之间在顶面与底面的部分有封闭式隔离结构 8, 进出口部分有开放式隔离结构 4、进液口 9、出液口 10。玻片表面的静态水接触角 44 度。

加保护结构的毛细宽带反应腔室单面芯片的制备: 利用实施例 7 的开零芯片的制备方法, 可以封闭、并在使用时打开上述进液区和出液区。

## 2) 毛细宽带反应腔室双面芯片的制备

本例中制备的无保护元件的毛细宽带反应腔室单面芯片记作 A3, 有保护元件的毛细宽带反应腔室单面芯片记作 A4。

所用顶面元件基于氨基盖玻片, 所用底面元件基于氨基载玻片, 顶面和底面都固定探针。将上述配基溶液用上述点样机 (GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司) 在顶面元件和底面元件的对应位置上以相同的形式分别点上上述 HCV 和 HIV 抗原各 2 个点, 形成  $2 \times 2$  配基方阵, 并进行包被反应和封闭、清洗和干燥。所用顶面元件与底面元件的结合及进液口和出液口的形成同于本实施例 1)。所制备的毛细宽带反应腔室芯片, 其毛细宽带反应腔室顶面与底面的尺寸为  $4\text{mm} \times 12.5\text{mm}$  (宽  $\times$  高), 顶面与底面的间距小于  $0.08\text{mm}$ , 玻片表面的静态水接触角  $44^\circ$ 。

## 3) 毛细宽带反应腔室芯片的特征检验

本实施例中使用 PBS 作为检验介质。将上述 1) 和 2) 中获得的芯片竖立 (入液口在下方, 出液口在上方), 用 8 管加样枪将  $5\mu\text{l}$  的 PBS 注入入液池中毛细宽带反应腔室入口处, 观察到 PBS 水溶液经此入口充满毛细宽带反应腔室并至出口。

## 4) 毛细宽带反应腔室芯片的使用

本实施例中所用样品为上述 1、2、5 号样品, 加样时样品作适当稀释, 加样方式有两种:

(1) 批加样: 加样量为  $3\mu\text{l}$ , 操作时在加液池加入样品后, 由于毛细作用, 样品自动充满整个从入口到出口的毛细宽带反应腔室, 未观察到气泡。将芯片放入孵箱, 反应温度  $37^\circ\text{C}$ , 反应时间 5 分钟。

(2) 连续加样: 操作时样品加热至  $37^\circ\text{C}$ , 将样品以流速  $1\mu\text{l}/\text{min}$  加入加液池, 加样量为  $10\mu\text{l}$ , 加样时间 10 分钟。由于毛细作用, 样品充满整个从入口到出口的毛细宽带反应腔室, 未观察到气泡。反应温度  $37^\circ\text{C}$ , 反应时间 5 分钟。

反应完成后样品经出液池用纸吸干或用移液枪抽出。洗涤液可用批式或连续式加入, 加入总量为  $20\mu\text{l}$ 。

标记物为罗丹明标记的羊抗人二抗 (Jackson ImmunoResearch



Laboratories 公司)。为尽量减少标记物用量，本实施例用批式加入，加入量为 3 $\mu$ l，反应温度 37 $^{\circ}$ C，反应时间 5 分钟。标记反应后的洗涤同于样品反应后的洗涤。干燥后直接使用激光共聚焦显微载检出结果（Afymetrix 公司 GMS 418 芯片扫描仪），数据处理后得到结果如表 6。

表 6

芯片	HCV 抗体阳性血清		HIV 抗体阳性血清		阳性对照物		阴性对照物	
	HCV 抗体	HIV 抗体	HCV 抗体	HIV 抗体	HCV 抗体	HIV 抗体	HCV 抗体	HIV 抗体
批加样								
A1*	+	-	-	+	+	+	-	-
A2*	+	-	-	+	+	+	-	-
A3*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4**	+	-	-	+	+	+	-	-
连续加样								
A1*	+	-	-	+	+	+	-	-
A2*	+	-	-	+	+	+	-	-
A3*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4**	+	-	-	+	+	+	-	-

“+”为阳性结果，“-”为阴结果

\*与\*\*分别为样品 10 倍稀释与 20 倍稀释的结果

### 实施例 10：可逆封闭式毛细宽带反应腔室芯片的制备及应用

本实施例中的片基（氨基载玻片）和 2 种探针（HCV 抗原和 HIV 抗原）与实施例 1 同。

#### 1) 底面元件的制备

(1) 以弹性材料为毛细宽带反应腔室壁和密封结构的底面元件

在氨基载玻片上,用弹性材料(自干硅橡胶溶液,成都晨光化工研究院)将预留固定配基的8个区域(参考图3B,每个区域宽4mm)之外的区域均匀涂满,弹性材料层厚小于0.06mm。待其过夜干燥后,将上述配基溶液用点样机(GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司)以每种配基3个点的形式点到上述预留区域内,形成3×3探针阵列。在室温下包被反应3小时后,经小牛血清封闭,清洗干燥后备用。所获底面元件记作A1。

(2) 以高疏水材料为毛细宽带反应腔室壁和密封结构的底面元件

在本实施例中,底面元件的制备与实施例1中1)的含有片基的元件的制备同。高疏水材料层厚小于0.06mm。所获得的基于氨基载玻片和黑漆载玻片的底面元件分别记作A2和A3。

(3) 以高疏水材料为毛细宽带反应腔室壁、弹性材料为毛细宽带反应腔室密封结构的底面元件

在氨基载玻片上,用高疏水材料(有机硅高疏水涂料,成都晨光化工研究院)在预留固定配基的8个区域(如图3A所示,每个区域宽4mm)的边界上形成边界线涂层,待其干燥后再将弹性材料(自干硅橡胶溶液,成都晨光化工研究院)将高疏水边界之外的区域涂上宽2mm的带,弹性涂层略高于高疏水涂层(层厚小于0.05mm)。再将上述配基溶液进行包被,包被方法同本实施例1)之(1)。所获底面元件记作A4。

(4) 以胶粘材料为毛细宽带反应腔室壁和密封结构的底面元件

在氨基载玻片上,用胶粘材料(特氟隆基质的水不溶单面不干胶,成都晨光化工研究院)将预留固定配基的8个区域(如图3B所示,每个区域宽4mm)之外的区域均匀粘合(层厚小于0.2mm)。将上述配基溶液进行包被,包被方法同本实施例1)之(1)。所获底面元件记作A5。

(5) 无密封结构的毛细宽带反应腔室底面元件

直接将上述配基包被在氨基载玻片上,包被方法同本实施例1)之(1)。所获底面元件记作A6。

## 2) 顶面元件的制备

### (1) 无成型结构的顶面元件

此一顶面元件(图 3C)为尺寸 100 mm×40 mm×2mm (长×宽×厚)的可重复使用的有进液口 13、出液口 14、进出液管、定位结构 15 的不锈钢板。其与底面元件接触的面为平面,无密封结构。其每一对进出液口与底面元件上的每一个反应池的进出液区相对应。所获顶面元件记作 B1。

### (2) 有成型结构的顶面元件

此一顶面元件(图 3D)为尺寸 100 mm×40 mm×2mm (长×宽×厚)的可重复使用并且有进出液口 13、进出液管的不锈钢板。其与底面元件接触的面上有密封结构 16。其密封结构为与底面元件反应池之外的区域对应的弹性材料层(自干硅橡胶溶液,成都晨光化工研究院)(层厚小于 0.1mm)。其每一对进出液口与底面元件上的每一个反应池的进出液区相对应。所获顶面元件记作 B2。

## 3) 毛细宽带反应腔室芯片的特征检验

本实施例中使用 PBS 作为检验介质。将上述 1) 和 2) 中获得的芯片顶面元件和底面元件作密封连结。本实施例使用机械卡具压力来形成所述密封连结。根据顶面元件和底面元件的不同组合形成不同的芯片(见表 7)。将顶面元件和底面元件的组合物竖立(入液口在下方,出液口在上方),分别加入 PBS 至毛细宽带反应腔室入口,开放入液口观察到 PBS 水溶液经此入口充满毛细宽带反应腔室并至出口。

## 4) 毛细宽带反应腔室芯片的使用

在本实施例中,所用样品同实施例 1。实验时,4 种样品分别加入上述毛细宽带反应腔室芯片(表 7),每种样品加 2 个反应池。加样时样品作适当稀释。

本实施例中加样方式有两种:

(1) 批加样:操作时在加液池加入样品并至出口后停止,由于毛细作用,样品自动充满整个从入口到出口的毛细宽带反应腔室,未观察到气泡。将芯片放入孵箱,反应温度 37℃,反应时间 5 分钟。

(2)连续加样:操作时样品加热至 37℃,将样品以先后以流速 10 $\mu$ l/min 和 1 $\mu$ l/min 加入加液池。加样时间 5 分钟。

反应完成后样品经出液口用纸吸干或用机械抽出。洗涤液可用批式或连续式加入,加入总量为 40 $\mu$ l。

标记物为罗丹明标记的羊抗人二抗 (Jackson ImmunoResearch Laboratories 公司)。为尽量减少标记物用量,本实施例用批式加入,加入量约为 5 $\mu$ l,反应温度 37℃,反应时间 5 分钟。标记反应后的洗涤同于样品反应后的洗涤。干燥后直接使用激光共聚焦显微载检出结果 (Afymetrix 公司 GMS 418 芯片扫描仪),数据处理后得到结果如表 7。

表 7

芯片	顶面元件	底面元件	HCV 抗体阳性血清		HIV 抗体阳性血清		阳性对照物		阴性对照物	
			HCV 抗体	HIV 抗体	HCV 抗体	HIV 抗体	HCV 抗体	HIV 抗体	HCV 抗体	HIV 抗体
1	B1	A1	+	-	-	+	+	+	-	-
2	B1	A2	+	-	-	+	+	+	-	-
3	B1	A3	+	-	-	+	+	+	-	-
4	B1	A4	+	-	-	+	+	+	-	-
5	B1	A5	+	-	-	+	+	+	-	-
6	B2	A6	+	-	-	+	+	+	-	-
7	B2	A1	+	-	-	+	+	+	-	-
8	B2	A2	+	-	-	+	+	+	-	-
9	B2	A3	+	-	-	+	+	+	-	-

“+”为阳性结果, “-”为阴结果

### 实施例 11: 配基-配体芯片的制备及应用

#### 1) 配基-配体芯片的制备

本实施例中的片基为环氧基玻片, 2 种探针为 HBs 融合抗原和抗 HBs 抗体 (北京人民医院肝病研究所)。

毛细宽带反应腔室单面芯片的制备方法如同实施例 9。尽管本发明中配

基和配体可有多种形式固定在不同的相对位置,本例中每一个毛细宽带反应腔室内靠近入液口处固定的是 HBs 融合抗原  $3 \times 3$  阵列,而靠近出液口处固定的抗 HBs 抗体  $3 \times 3$  阵列。

## 2) 毛细芯片的特征检验

方法同实施例 9。

## 3) 配基-配体芯片的应用

在本实施例中使用的样品,为 HBs 抗原阳性人血清、HBs 抗原阴性血清和 HBs 抗体阳性人血清。所有的样品,均是经使用经典的单反应器开放式芯片在同等反应条件下预先检测确定的。实验时,3 种样品分别加入上述制备的芯片。本例中用实施例 9 中的批加样方式加样,检测方法与实施例 9 相同。数据处理后得到结果如表 8。

表 8

样品稀释倍数	HBs 抗原阳性血清	HBs 抗原阴性血清	HBs 抗体阳性血清
10	+	—	+
100	+	—	+

“+”为阳性结果, “—”为阴性结果;

## 权 利 要 求 书

1、一种分析芯片，其含一个或一个以上的多个高度最小化的反应器，所述反应器至少包括一个或多个毛细宽带反应腔室、高度最小化的反应器结构、及任选的标记系统凸体，所述反应器结构至少包括开放式隔离结构、及任选的凸流路、及任选的反应器保护结构，而且

(a) 所述毛细宽带反应腔室包括：分别由顶面元件和底面元件提供的宽度大于  $600\mu\text{m}$  的顶面和底面、固定在所述顶面或/和底面上的片基探针区内的探针、所述顶面和底面之间高度  $1-1000\mu\text{m}$ 、优选  $1-500\mu\text{m}$  的封闭式隔离结构及进液口和出液口，且所述顶面和底面的尺寸、间距和材质的选择使得反应介质可以在所述腔室中形成毛细现象；

(b) 所述凸流路包括高度大于  $0.05-1000\mu\text{m}$ 、优选  $0.05-500\mu\text{m}$ ，宽度  $5-4000\mu\text{m}$  的高亲水凸体；

(c) 所述开放式隔离结构包括宽度为  $0.5-10\text{mm}$  的片基空白区 (12)，或/和高度小于  $1000\mu\text{m}$ 、优选小于  $500\mu\text{m}$  的疏水凸体或/和高疏水凸体或/和吸水凸体；

(d) 所述标记系统凸体为不掩蔽所述探针的含标记物的凸体；

(e) 所述保护结构包括其底面与所述片基探针区所在平面间距小于  $1000\mu\text{m}$ 、优选小于  $500\mu\text{m}$  的保护元件，所述保护元件在不欲加入样品时封闭至少部分反应器结构、在欲加入样品时其被全部或部分不可逆地去除；

其中所述片基探针区和片基空白区在同一片基同一平面上且吸水率小于  $0.1\text{g/g}$ 、表面静态水接触角为  $40-80$  度，所述高疏水凸体、疏水凸体、高亲水凸体、吸水凸体分别为至少部分表面分别含高疏水材料、疏水材料、高亲水材料、吸水材料的凸体，所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大  $40$  度以上，所述疏水材料的表面静态水接触角为  $55-80$  度，所述高亲水材料的表面静态水接触角小于  $40$  度，所述吸水材料的吸水率大于  $0.1\text{g/g}$ 。

2、根据权利要求 1 所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的封闭式隔离结构的高度为  $1-300\mu\text{m}$ 、优选为  $30-100\mu\text{m}$ ，所述顶面和底面的宽度为  $1000-15000\mu\text{m}$ 、长度大于  $1000\mu\text{m}$ 。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的顶

面和底面的宽度为 1500—15000 mm、优选为 2500—15000 mm。

4、根据权利要求 1—3 之一所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的所述封闭式隔离结构包括下述一种或多种可逆或不可逆密封结构：热密封结构，化学密封结构，可逆或不可逆粘胶层，高疏水层，和包括高分子材料弹性涂层、片、带的机械密封件。

5、根据权利要求 1—4 之一所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的所述底面或/和顶面处的底面元件或/和顶面元件厚度小于 1mm、优选小于 0.2mm，且检测光线透过率大于 90%。

6、根据权利要求 1—5 之一所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的底面和顶面中仅一个面固定有配基，且固定配基的面具有亲水性质而不固定配基的面具有疏水性质。

7、根据权利要求 1—6 之一所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的底面的材质为玻璃，而其顶面的材质为亲水或疏水塑料。

8、根据权利要求 1—7 之一所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室的片基探针区中有一个区域固定有一种或多种配基，而另有一个区域固定有一种或多种与所述配基相应的配体。

9、根据权利要求 8 所述的芯片，其中所述配基和配体包括抗原和抗体。

10、根据权利要求 1—9 之一所述的芯片，其中所述凸流路为高亲水涂层。

11、根据权利要求 1—9 之一所述的芯片，其中所述凸流路的隔离结构为高度小于 1000  $\mu\text{m}$ 、优选小于 500  $\mu\text{m}$  的疏水凸体或/和高疏水凸体。

12、根据权利要求 1—11 之一所述的芯片，其中所述凸流路上固定有分离介质。

13、根据权利要求 12 所述的芯片，其中所述分离介质包括电泳介质或层析介质。

14、根据权利要求 1—13 之一所述的芯片，其中所述高疏水凸体、疏水凸体、高亲水凸体、吸水凸体分别由液态材料固化在所述芯片表面而形成、或/和由固态材料固定在所述芯片表面而形成，其中所述液态材料包括分别含有所述高疏水材料、疏水材料、高亲水材料、吸水材料的溶液、涂料、凝胶、乳液，所述固态材料包括分别含有所述高疏水材料、疏水材料、高亲水材料、吸水材料的片、膜、板、带、粉。

15、根据权利要求 1—14 之一所述的芯片，其中所述高疏水凸体的高度为 0.1—100 $\mu\text{m}$ 。

16、根据权利要求 1—15 之一所述的芯片，其中所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大 70 度以上。

17、根据权利要求 1—15 之一所述的芯片，其中所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大 90 度以上。

18、根据权利要求 1—15 之一所述的芯片，其中所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大 110 度以上。

19、根据权利要求 1—18 之一所述的芯片，其中所述高疏水材料包括高疏水有机材料或/和高疏水纳米材料。

20、根据权利要求 19 所述的芯片，其中所述高疏水材料包括下述一种或多种材料：高疏水有机硅材料及其衍生物、高疏水氟树脂及其衍生物、高疏水聚合物和含高疏水纳米微粒的涂料或/和固态材料。

21、根据权利要求 1—20 之一所述的芯片，其中所述疏水凸体包括疏水涂层。

22、根据权利要求 21 所述的芯片，其中所述疏水涂层包括反应器的有色标记线、条。

23、根据权利要求 1—22 之一所述的芯片，其中所述高亲水材料的表面静态水接触角小于 30 度。

24、根据权利要求 23 所述的芯片，其中所述高亲水材料包括高亲水纳米材料和纳米高分子材料。

25、根据权利要求 1—24 之一所述的芯片，其中所述吸水材料包括天然吸水材料、亲水无机化合物的固相多孔物质及合成高分子吸水材料。

26、根据权利要求 25 所述的芯片，其中所述吸水材料包括下述一种或多种材料：含毛细管结构纸制品、棉制品、海绵及其改性物，钙盐，纤维素系吸水材料、淀粉系吸水材料、合成树脂系及其接枝、嵌段、共聚产生的化合物吸水材料。

27、根据权利要求 1—26 之一所述的芯片，其中所述标记系统凸体为控制缓释标记系统凸体，且其中所包括的标记物的半释期大于 10 秒、优选大于 30 秒，所述标记系统凸体中的标记物含有标记物质及配基，所述标记物质包括酶、荧光染料、化学发光催化剂、有色金属或有色金属盐、染料和颜



料, 所述配基包括抗原、抗体、生物素、药物配基、多肽、DNA、RNA 及其片断。

28、根据权利要求 27 所述的芯片, 其中所述控制缓释标记系统包括标记物和控制缓释剂。

29、根据权利要求 28 所述的芯片, 其中所述标记系统凸体的高度小于  $1000\ \mu\text{m}$ , 且固定在反应器中探针阵列周围、或固定在探针阵列内形成探针/标记系统阵列。

30、根据权利要求 27—29 之一所述的芯片, 其中所述控制缓释标记系统凸体包括所述标记物与控制缓释剂形成的单重或多重夹心结构, 所述夹心结构是指浓度分布在内部高于外部的结构。

31、根据权利要求 28—30 之一所述的芯片, 其中所述控制缓释剂包括水可溶性或水溶液可致崩解的有机物。

32、根据权利要求 31 所述的芯片, 其中所述有机物包括下述一种或多种物质: 碳水化合物及其衍生物、植物淀粉及改性淀粉、植物胶、动物胶、改性纤维素、聚合物和缩合物。

33、根据权利要求 1—32 之一所述的芯片, 其中所述保护元件包括下述一种或多种材料: 有机材料膜、片, 金属—有机材料复合膜、片, 玻片。

34、根据权利要求 33 所述的芯片, 其中所述保护元件与所述反应器通过包括下述一种或多种可逆或不可逆密封结构连接: 热密封结构、化学密封结构、及可逆或不可逆粘胶层。

35、根据权利要求 33 或 34 所述的芯片, 其中所述保护元件作了方便去封闭的预切割。

36、一种分析芯片, 其含一个或一个以上的多个高度最小化反应器, 所述反应器至少包括探针、片基探针区、高度最小化的开放式隔离结构、及任选的反应器保护结构, 而且所述开放式隔离结构包括相对于片基探针区其高度  $0.1\text{—}1000\ \mu\text{m}$ 、优选  $0.1\text{—}500\ \mu\text{m}$  的高疏水凸体或/和吸水凸体, 及宽度  $0.2\text{—}3.0\ \text{mm}$  的片基空白区, 其中所述片基探针区和片基空白区在同一片基同一平面上且表面静态水接触角为  $40\text{—}80$  度, 所述高疏水凸体和吸水凸体至少其部分表面分别含高疏水材料和吸水材料, 所述高疏水材料的表面静态水接触角比所述片基探针区的表面静态水接触角大  $40$  度以上, 所述吸水材料的吸水率大于  $0.1\text{g/g}$ 。

37、根据权利要求 36 所述的芯片，其中所述反应器为开放式反应器。

38、根据权利要求 36 或 37 所述的芯片，其中所述开放式隔离结构包括的所述高疏水凸体为权利要求 15—25 之一所述的高疏水凸体，所述吸水凸体为权利要求 15 或 24 或 25 所述的吸水凸体，而所述保护结构包括权利要求 1 或 33—35 之一所述保护结构。

39、一种分析芯片，其含一个以上的多个高度最小化的开放式反应器，所述反应器为非流动式反应器、且至少包括探针、片基探针区、高度最小化的开放式隔离结构、及任选的反应器保护结构，而且所述开放式隔离结构为宽度 1—10 mm 的片基空白区及任选的相对于片基探针区其高度 0—1000  $\mu\text{m}$ 、优选 0—500  $\mu\text{m}$  的疏水凸体，其中：所述片基探针区和片基空白区在同一片基同一平面上且吸水率小于 0.1g/g、表面静态水接触角为 40—80 度，所述疏水凸体至少其部分表面含疏水材料，所述疏水材料其表面静态水接触角为 55—80 度。

40、根据权利要求 39 所述的芯片，其中所述开放式隔离结构包括的所述疏水凸体为权利要求 21 或 22 所述的疏水凸体，而所述保护结构包括权利要求 1 或 33—35 之一所述保护结构。

41、一种分析芯片，其含一个或一个以上的多个高度最小化的反应器，所述反应器为流动式或非流动式反应器，且至少包括一个或多个高度最小化的毛细宽带反应腔室、及任选的反应器保护结构，而且所述毛细宽带反应腔室其高度小于 1000  $\mu\text{m}$ 、优选小于 500  $\mu\text{m}$ ，并包括分别由顶面元件和底面元件提供的宽度大于 600  $\mu\text{m}$  的顶面和底面、固定在所述顶面或/和底面上的片基探针区内的探针、所述顶面和底面之间的封闭式隔离结构及进液口和出液口，且所述顶面和底面的尺寸、间距和材质的选择使得反应介质可以在所述腔室中形成毛细现象，其中所述片基探针区其吸水率小于 0.1g/g 且表面静态水接触角为 40—80 度。

42、根据权利要求 41 所述的芯片，其中所述毛细宽带反应腔室为权利要求 2—9 之一所述的毛细宽带反应腔室，而所述保护结构包括权利要求 1 或 33—35 之一所述保护结构。

43、一种分析芯片，其含一个或一个以上的多个高度最小化反应器，所述反应器为流动式或非流动式反应器，其至少包括探针、片基探针区、相对于片基探针区其高度 1—1000  $\mu\text{m}$ 、优选 1—500  $\mu\text{m}$  的凸流路、及任选的反

应器保护结构, 而且所述凸流路为宽度 5—4000  $\mu\text{m}$  的高亲水凸体, 其中: 所述片基探针区其吸水率小于 0.1g/g 且表面静态水接触角为 40—80 度, 所述高亲水凸体为至少部分表面分别含高亲水材料的凸体, 所述高亲水材料的表面静态水接触角小于 40 度。

44、根据权利要求 43 所述的芯片, 其中所述凸流路为权利要求 10—25 之一所述的凸流路, 而所述保护结构包括权利要求 1 或 33—35 之一所述保护结构。

45、根据权利要求 43 或 44 所述的芯片, 其中所述反应器为开放式反应器。

46、根据权利要求 43—45 之一所述的芯片, 其中所述反应器包括权利要求 1 或 14—26 之一所述开放式隔离结构。

47、一种分析芯片, 其含一个或一个以上的多个高度最小化反应器, 所述反应器至少包括探针、片基探针区、标记系统凸体、及任选的反应器保护结构, 所述标记系统凸体为不掩蔽所述探针的含标记物的凸体。

48、根据权利要求 47 所述的芯片, 其中所述反应器为开放式反应器。

49、根据权利要求 47 或 48 所述的芯片, 其中所述标记系统凸体包括权利要求 26—30 之一所述标记系统凸体, 而所述保护结构包括权利要求 1 或 33—35 之一所述保护结构。

50、一种分析芯片, 其含一个以上的多个高度最小化的反应器, 所述反应器包括易拆零片基或/和高度最小化的反应器保护结构, 其中: 所述易拆零片基为在在使用时容易按需拆离的片基, 所述保护结构包括与所述探针所在平面间距小于 1000  $\mu\text{m}$ 、优选小于 500  $\mu\text{m}$  的保护元件, 所述保护元件在不欲加入样品时封闭全部或部分反应器结构、在欲加入样品时其被全部或部分不可逆地去除。

51、根据权利要求 50 所述的芯片, 其中所述保护结构包括权利要求 1 或 33—35 之一所述的保护结构。

52、一种高密度反应器分析芯片, 其中一个片基的至少一个面上的反应器密度大于 2 个/ $\text{cm}^2$ 、优选大于 3 个/ $\text{cm}^2$ , 且所述反应器的隔离结构的高度小于 1000  $\mu\text{m}$ 、优选小于 500  $\mu\text{m}$ 。

53、根据权利要求 52 所述的芯片, 其中所述反应器密度大于 5 个/ $\text{cm}^2$ 。

54、根据权利要求 52 或 53 所述的芯片, 其中所述反应器为权利要求 1

—51 之一所述隔离高度最小化的反应器。

55、在权利要求 1—34 之一所述的芯片中使用的顶面元件或底面元件，其包括片基探针区及其内固定的探针。

56、一种基片，其包括一个以上的多个片基探针区及下述一种或一种以上的多种反应器结构：权利要求 1 或 9—13 之一所述的凸流路、或权利要求 1 或 14—24 之一所述的开放式隔离结构。

57、一种定性或/和定量分析方法，其包括：(a) 将样品加入分析芯片开放式反应器并在其中反应；(b) 所述反应完成后不将剩余样品从所述反应器中吸出即直接进行下一步操作，所述下一步操作包括洗涤或标记。

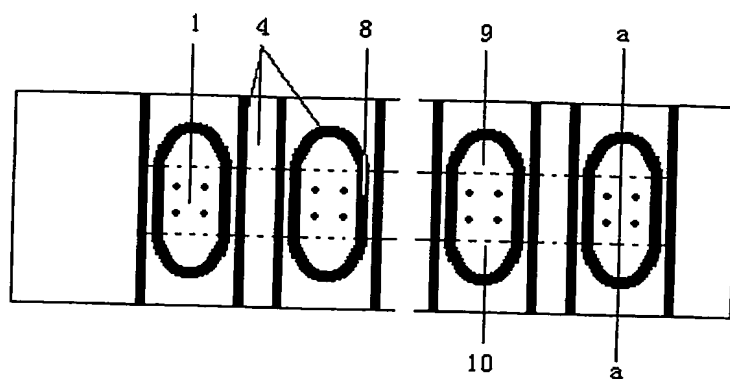
58、根据权利要求 57 所述的方法，其中所述开放式芯片为权利要求 36—39 之一所述的开放式多反应器芯片。

59、一种定性或/和定量分析方法，其包括：(a) 将样品加入分析芯片反应器并在其中进行探针选择性反应和标记反应；(b) 洗涤并分析所述反应的结果。

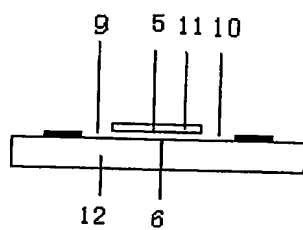
60、根据权利要求 59 所述的方法，其中所述芯片为权利要求 1—54 之一所述的芯片。

61、一种检测装置，其包括将芯片反应器中反应完成后的剩余物净化的部件，所述部件是通过用吸水率大于 0.5g/g 的吸水物吸收、或/和将所述芯片与水平面形成一夹角直接冲洗来进行所述净化的，所述夹角大于 5 度。

图 1



A



B

图 2

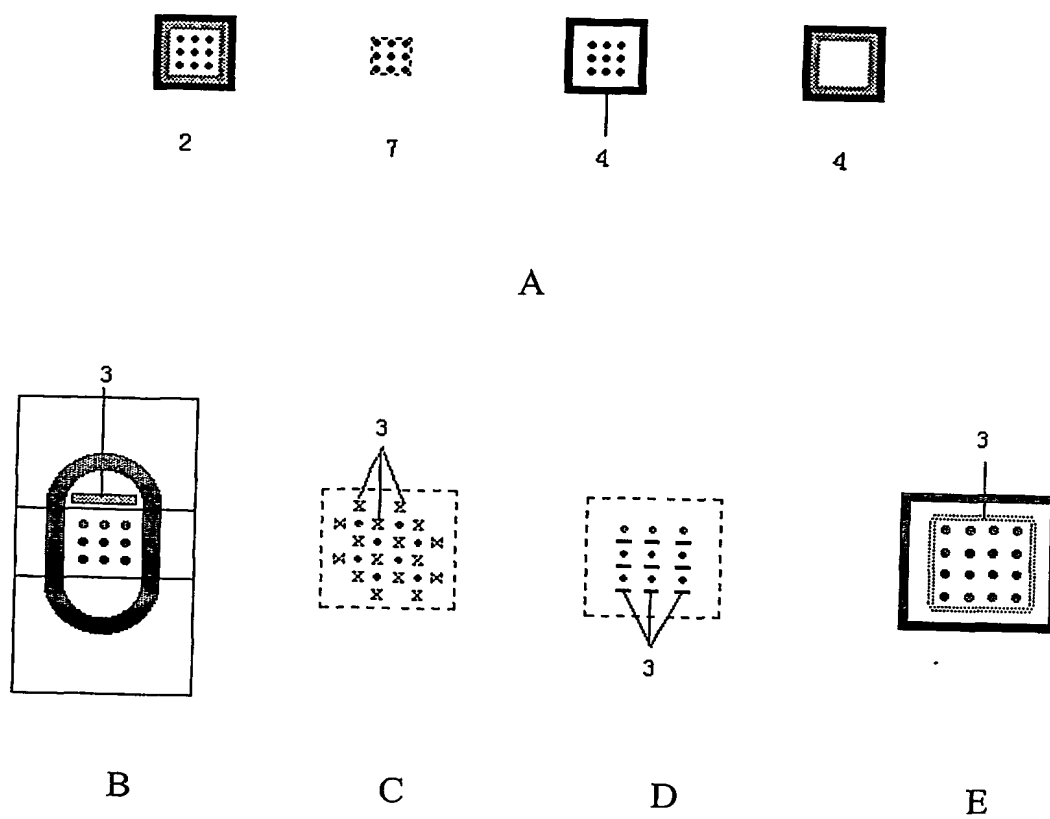
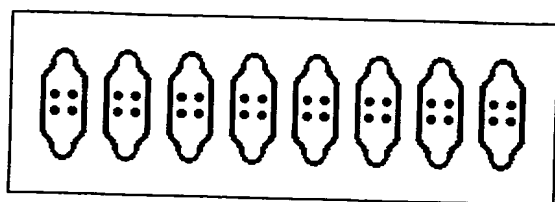
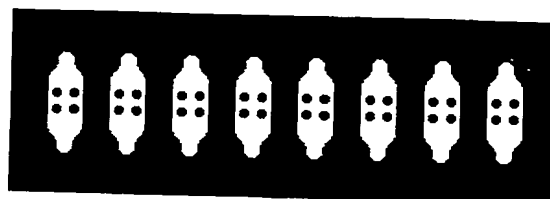


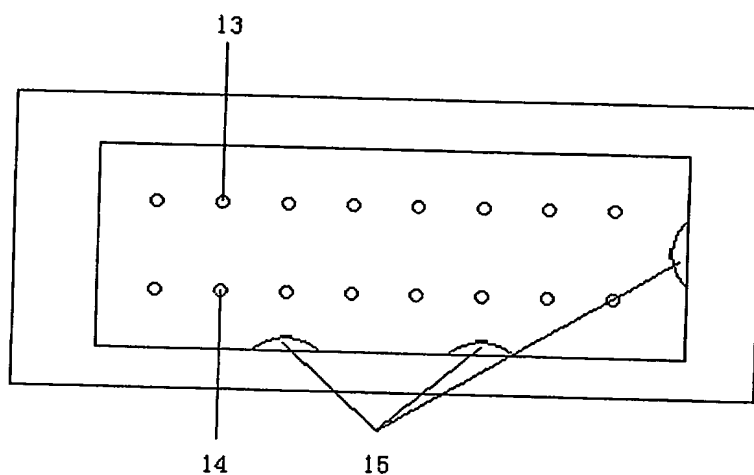
图 3



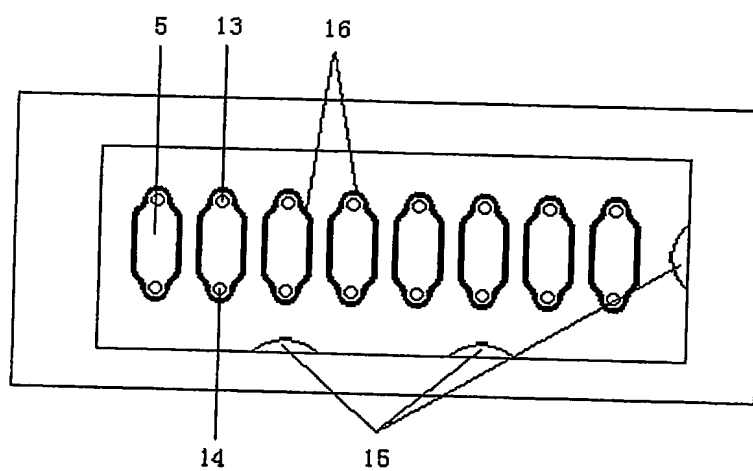
A



B



C



D

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2004/000169

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/543, C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC<sup>7</sup>: G01N33/543, C12Q1/68, G01N33/68, G01N33/53, G01N33/50, G01N33/48, C12Q1/00, G01N33/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Chinese patent documents( 1985~)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT&CNKI&WPI&EPODOC&PAJ: gene chip, biochip, DNA chip, microarray(s), micro array(s)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN, Y, 2280908 (Gao Jinsong) 06.May.1998 (06.05.1998), Page 1-2, Fig.1-3	50、51
X	CN, A, 1273609 (HYSEQ INC) 15.Nov.2000 (15.11.2000), Page3-5、13-28、67-73, Claims	36、37、59
Y		50-53
A		38-42、57、58
Y	CN, A, 1274758 (Lu Zuhong) 29.Nov.2000 (29.11.2000), Page3-10, Fig.1、2	52、53
A	CN, A, 1281147 (Wu Chang) 24.Jan.2001 (24.01.2004), Page1	1-40、43-46、55、56
Y		52、53
A		1-35
X	CN, A, 1335501 (SHANGHAI JINGTAI BIOLOGICAL TECHNOLOGY COMPANY) 13.Feb.2002 (13.02.2002), Page1-4, Fig.1-3	59
Y		36、37、52、53
A		1-35、38-51、54-58、

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
07.Jul.2004(07.07.2004)

Date of mailing of the international search report  
22 · JUL 2004 (22 · 07 · 2004)

Name and mailing address of the ISA/CN  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,  
100088 Beijing, China  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Shi Jianping

Telephone No. 86-10-62083767



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000169

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN, A, 1343790 (HENAN PROV BIO TECHNOLOGY DEV CENT) 10.Apr.2002 (10.04.2002), Page1-3, Fig.1-3	61
Y	Jornal of Mechanical Strength, Vol.23, No.4, 2001, Cui Dafu "DNA chips research based on bioMEMS technologies", Page471-475	52、 53
A		1-35、 41-42
X	WO, A1, 02090963 (Combimatrix Corporation) 14.Nov.2002 (14.11.2002), Page8、 9, Fig.1	59
A		1-58、 60
A	CN, A , 1314493 (SHANGHAI BODAO GENE DEV CO LTD) 26.Sep.2001 (26.09.2001), The whole document	1-56
A	CN,A,1325026(ChongQing University)05.Dec.2001(05.12.2001),The whole document	1-56
PA	CN,A,1417348(Union Gene Technology LTD.)14.May.2003(14.05.2003),The whole document	1-59
PA	CN,A,1448723(Chengdu Kuachang Science & Technology LTD.)15.Oct.2003(15.10.2003).The whole document	1-56
A	US,A, 5545531 (Richard P. Rava et al.) 13.Aug.1996(13.08.1996), The whole document	1-56
A	US,A1,2002009728(Michael Bittner et al.)24.Jan.2002(24.01.2002),The whole document	1-56
A	WO,A1,02052045(Aviva Biosciences)04.Jul.2002(04.07.2002),The whole document	1-56

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000169

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a)

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Claims 1-56 and claims 57-60 and claim 61. Claims 1-56 relate to a chip for analysis, a top component or a base component of the chip, or a substrate. Claims 57-60 relate to a qualitative or quantitative analysis. Claim 61 relates to a detection equipment.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2004/000169

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication Date
CN, Y, 2280908	06.May.1998	NONE	
CN, A, 1273609	15.Nov.2000	US , A1, 2003108897	12.Jun.2003
		WO , A1, 9909217	25.Feb.1999
		AU, A , 8908198	08.Mar.1999
		EP , A1, 1012335	28.Jun.2000
		KR, A, 2001022917	26.Mar.2001
		JP , T , 2001514906T	18.Sep.2001
		US, A1, 2002034737	21.Mar.2002
		US, B1, 6383742	07.May.2002
CN, A, 1274758	29.Nov.2000	WO , A, 0071746	30.Nov.2000
		AU , A , 4535400	12.Dec.2000
CN, A, 1281147	24.Jan.2001	NONE	
CN , A , 1335501	13.Feb.2002	WO , A, 02077152	03.Oct.2002
CN, A, 1343790	10.Apr.2002	NONE	
WO, A, 02090963	14.Nov.2002	NONE	
CN, A, 1314493	26. Sep.2001	NONE	
CN, A, 1325026	05.Dec.2001	NONE	
CN, A, 1417348	14.May.2003	NONE	
CN, A, 1448723	15.Oct.2003	NONE	
US, A, 5545531	13.Aug.1996	US , A, 5874219	23.Feb.1999
		US , A , 2002018991	14.Feb.2002
US, A1, 2002009728	24.Jan.2002	NONE	
WO, A1, 02052045	04.Jul.2002	US, A, 2002123134	05. Sep.2002

# 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2004/000169

## A. 主题的分类

G01N33/543, C12Q1/68

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC<sup>7</sup>: G01N33/543, C12Q1/68, G01N33/68, G01N33/53, G01N33/50, G01N33/48, C12Q1/00, G01N33/00

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献(1985~)

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNPAT, 非专利期刊全文数据库: 生物芯片, 基因芯片, DNA 芯片, 微阵列

WPI&EPODOC&PAJ: gene chip, biochip, DNA chip, microarray(s), micro array(s)

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN, Y, 2280908 (高劲松) 1998 年 5 月 6 日 (06.05.1998), 说明书 1-2 页, 附图 1-3	50、51
X Y A	CN, A, 1273609 (希斯克有限公司) 2000 年 11 月 15 日 (15.11.2000), 说明书 3-5、13-28、67-73 页, 权利要求书	36、37、59 50-53 38-42、57、58
Y A	CN, A, 1274758 (陆祖宏) 2000 年 11 月 29 日 (29.11.2000), 说明书 3-10 页, 附图 1、2	52、53 1-40、43-46、55、56
Y A	CN, A, 1281147 (吴昌) 2001 年 1 月 24 日 (24.01.2004), 说明书第 1 页	52、53 1-35
X Y A	CN, A, 1335501 (上海晶泰生物技术有限公司) 2002 年 2 月 13 日 (13.02.2002), 说明书 1-4 页, 附图 1-3	59 36、37、52、53 1-35、38-51、54-58、60
X	CN, A, 1343790 (河南省生物技术开发中心) 2002 年 4 月 10 日 (10.04.2002), 说明书 1-3 页, 附图 1-3	61
Y A	机械强度, 第 23 卷, 第 4 期, 2001 年, 崔大付 “基于 BioMEMS 的 DNA 芯片研究”, 第 471-475 页	52、53 1-35、41-42
X A	WO, A1, 02090963 (Combimatrix 公司) 2002 年 11 月 14 日 (14.11.2002), 说明书 8、9 页, 附图 1	59 1-58、60

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

07.7 月 2004 (07.07.2004)

国际检索报告邮寄日期

22 · 7 月 2004 (22 · 07 · 2004)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

授权官员



电话号码: (86-10)62085767

国际检索报告

国际申请号  
PCT/CN2004/000169

C(续). 相关文件		
类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN, A, 1314493 (上海博道基因开发有限公司) 2001 年 9 月 26 日 (26.09.2001), 全文	1-56
A	CN, A, 1325026 (重庆大学) 2001 年 12 月 5 日 (05.12.2001), 全文	1-56
PA	CN, A, 1417348 (联合基因科技有限公司) 2003 年 5 月 14 日 (14.05.2003), 全文	1-59
PA	CN, A, 1448723 (成都夸常科技有限公司) 2003 年 10 月 15 日 (15.10.2003), 全文	1-56
A	US, A, 5545531 (Richard P. Rava 等) 1996 年 8 月 13 日 (13.08.1996), 全文	1-56
A	US, A1, 2002009728 (Michael Bittner 等) 2002 年 1 月 24 日 (24.01.2002), 全文	1-56
A	WO, A1, 02052045 (Aviva 生物科学公司) 2002 年 7 月 4 日 (04.07.2002), 全文	1-56

# 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2004/000169

## 第II栏 关于某些权利要求不能作为检索主题的意见(接第1页第2项)

按条约 17(2)(a)对某些权利要求未作国际检索报告的理由如下:

1. ☐ 权利要求:

因为它们涉及到不要求本国际检索单位进行检索的主题, 即:

2. ☐ 权利要求:

因为它们涉及到国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:

3. ☐ 权利要求:

因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则 6.4(a)第 2 句和第 3 句的要求撰写。

## 第III栏 关于缺乏发明单一性时的意见(接第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

权利要求 1-56 及 57-60 及 61, 权利要求 1-56 分别涉及一种分析芯片、芯片中使用的顶面元件或底面元件、基片。权利要求 57-60 涉及一种定性或/定量分析方法。权利要求 61 涉及一种检测装置。

1. ☒ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告针对全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本国际检索单位未通知缴纳任何附加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。具体地说, 是权利要求:

4. ☐ 申请人未按时缴纳被要求的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求中首次提及的发明; 包含该发明的权利要求是:

关于异议的说明: ☐ 申请人的异议书随附加检索费同时提交。

☐ 支付附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2004/000169

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN, Y, 2280908	06.5 月 1998	无	
CN, A, 1273609	15.11 月 2000	US, A1, 2003108897	12.6 月 2003
		WO, A1, 9909217	25.2 月 1999
		AU, A, 8908198	08.3 月 1999
		EP, A1, 1012335	28.6 月 2000
		KR, A, 2001022917	26.3 月 2001
		JP, T, 2001514906T	18.9 月 2001
		US, A1, 2002034737	21.3 月 2002
		US, B1, 6383742	07.5 月 2002
CN, A, 1274758	29.11 月 2000	WO, A, 0071746	30.11 月 2000
		AU, A, 4535400	12.12 月 2000
CN, A, 1281147	24.1 月 2001	无	
CN, A, 1335501	13.2 月 2002	WO, A, 02077152	03.10 月 2002
CN, A, 1343790	10.4 月 2002	无	
WO, A, 02090963	14.11 月 2002	无	
CN, A, 1314493	26.9 月 2001	无	
CN, A, 1325026	05.12 月 2001	无	
CN, A, 1417348	14.5 月 2003	无	
CN, A, 1448723	15.10 月 2003	无	
US, A, 5545531	13.8 月 1996	US, A, 5874219	23.2 月 1999
		US, A, 2002018991	14.2 月 2002
US, A1, 2002009728	24.1 月 2002	无	
WO, A1, 02052045	04.7 月 2002	US, A, 2002123134	05.9 月 2002